Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

Untersuchungen der endokrinologischen Funktion der Hoden und der gonadotropin-ausschüttenden Zellen der Hypophyse bei tetraspastischen Kindern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Alfred Kuttruf
aus Stuttgart-Bad Cannstatt

1978

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. J. R. Bierich

Untersuchungen der endokrinologischen Funktion der Hoden und der gonadotropin-ausschüttenden Zellen der Hypophyse bei tetraspastischen Kindern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Alfred Kuttruf
aus Stuttgart-Bad Cannstatt

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.I-E.Hoffmeister
1. Berichterstatter: Professor Dr. D.Gupta
2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. K.Mayer

Meinen Eltern

Besonders danken möchte ich

Herrn Prof.Dr.J.R.Bierich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in der Kinderklinik und Herrn Prof.Dr.D. Gupta, Abteilungsvorsteher für endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik, für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung.

Sehr zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Oberarzt Dr.K. Rager für seine technischen und wissenschaftlichen Anregungen bei der Bearbeitung des Themas.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof.Dr.R.Michaelis, Leiter der Abteilung für Entwicklungsstörungen im Kindesalter, für seine freundliche Beratung bei methodischen Problemen der Anamneseerhebung.

Danken möchte ich auch Herrn M.Eichner, der mir die von ihm bestimmten LH- und FSH-Werte zur Verfügung stellte.

Endlich danke ich dem gesamten Personal des Hormonlabors für seinen kollegialen Beistand und konstruktiven Hinweise.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536519_0073

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
1.2.	Normale Entwicklung und physiologischer Descensus der Testes	2
1.3.	Ursachen des Maldescensus testis	4
1.4.	Diagnostik des Hodenhochstandes	5
1.5.	Problemstellung	6
2.	Patienten und Material	8
2.1.1.	Patienten	8
2.1.2.	Anamneseerhebung	9
2.2.	Material	13
2.2.1.	Hormonpräparate zur Durchführung der diagnostischen Teste	13
2.2.2.	Blutproben	13
2.2.3.	Kristalline Steroide	13
2.2.4.	Tritiummarkierte Steroide	14
2.2.5.	Antiseren	14
2.2.6.	Chemikalien und Reagenzien	15
2.2.7.	Glaswaren	16
2.2.8.	Messung der Radioaktivität	16
3.	Methode	16
3.1.	Extraktion	17
3.2.	Säulenchromatographie zur Auftrennung der Steroide	18
3.2.1.	Prinzip	18
3.2.2.	Präparation der Chromatographie-Säulen	19
3.2.3.	Untersuchung des chromatographischen Verhaltens von Testosteron und DHT	20
3.2.4.	Auftrennung des Plasmaextraktes	21

Seite

3.3.	Radioimmunologische Bestimmung	23
3.3.1.	Radioimmunologische Methode	23
3.3.2.	Durchführung des Radioimmunoassays	25
3.3.2.1.	Vorbereitung des Ansatzes für den Radioimmunoassay	25
3.3.2.2.	Zugabe von markiertem Hormon und Antikörper	26
3.3.2.3.	Trennung des freien vom gebundenen Hormon	27
3.3.4.	Brechnung der Proben	28
3.3.5.	Methode der LH-FSH-Bestimmung	29
3.3.6.	Angaben bei statistischen Darstellungen	29
4.	Ergebnisse	29
4.1.	Methodische Ergebnisse	29
4.1.1.	Radioaktive Wiederfindung	29
4.1.2.	Standardkurven	30
4.1.3.	Spezifität der Methode	38
4.1.4.	Leerwerte	40
4.1.5.	Präzision der Methode	42
4.1.5.1.	Präzision der Standardkurve	42
4.1.5.2.	Präzision bei der Bestimmung der Plasmaproben	43
4.1.5.3.	Richtigkeitskontrolle	44
4.1.6.	Empfindlichkeit der radioimmunologischen Methode	45
4.1.6.1.	Bestimmung der unteren Nachweisgrenze	45
4.1.6.2.	Empfindlichkeit der Standardkurve	47
4.2.	Ergebnisse der Hormonbestimmung und der klinischen Untersuchung	48
4.2.1.	Ergebnisse der Hormonbestimmung	48
4.2.2.	Ergebnisse der klinischen Untersuchung und der Anamnese	57

Seite

4.2.2.1. Genitalbefund 57
4.2.2.2. Ergebnisse der Anamneseerhebung und der neurolog.Untersuchung 58

5. Diskussion 65

6. Zusammenfassung 79

7. Literatur 81

Klettere, steige, steige. Aber es
gibt keine Spitze. Du entdeckst
immer Spuren im Schnee. Es ist
schon einer vor Dir dagewesen.
Und es gibt keinen Neuschnee.

Tucholsky 1931

1. Einleitung

1.1. Bei Kindern mit spastischer Tetraparese wurde gehäuft ein Hodenhochstand beobachtet. Früherkennung und Frühbehandlung der neurologischen Schäden stehen im Vordergrund. Die Diagnose des Hodenhochstands erscheint als Nebenbefund angesichts der Schwere des neurologischen Krankheitsbildes, der sich manifestierenden zerebralen Bewegungsstörung. Zunächst geht es um die Herstellung möglichst günstiger motorischer Funktionen, - weil die motorische Entwicklung eng verbunden ist mit der geistig-seelischen Entwicklung -, die Entwicklung der geistigen Anlagen des Kindes und den Ausgleich sensorischer Mängel, auch als Voraussetzung, seelische Fehlentwicklung des Kindes zu verhindern.

Die meisten Fälle von spastischer Tetraparese zeigen in Auswirkung zentraler Regulationsleistung Neigung zur Besserung. Dank der Früherkennung und Frühbehandlung, - insbesondere kinderkrankengymnastischer Natur,- haben viele Kinder mit spastischer Tetraparese eine günstigere Prognose in Vergleich zu früher (Wiedemann, 1975).

Bei günstiger Prognose der spastischen Tetraparese gewinnt auch die Diagnose des Hodenhochstandes wesentlich an Bedeutung. Dieser kann mit seinen bekannten Implikationen, - der quoad fertilitatem geschmälerten Prognose, der kosmetisch

unbefriedigenden Situation, der psychologischen Folgezustände und womöglich einer zukünftigen Neoplasie (Campbell, 1959) zu einer weiteren Belastung der Patienten führen (Swoboda, 1970).

Zum Phänomen des Hodenhochstands bei Patienten mit spastischer Tetraparese finden sich in der medizinischen Fachliteratur meines Wissens noch keine Angaben. 1956 berichtete Keye in einer Kasuistik von einem 45-jährigen Patienten, bei dem über 15 Jahre eine spastische Paraplegie bestand. Bei der Autopsie fand sich bezüglich des Genitalbefundes eine Atrophie der Testes bei gleichzeitiger starker Hyperplasie der Leydig-Zellen.

Auch über andere endokrinologische Phänomene bei Schädigung des ZNS wird in der Literatur berichtet. Schon 1949 beschrieb Cooper das Auftreten von Gynäkomastie bei Patienten mit einer Paraplegie. Bierich et al. (1967) berichteten über das Auftreten von Frühreife bei Kindern mit cerebral-organischen Erkrankungen.

1.2. Normale Entwicklung und physiologischer Descensus der Testes.

Beim vier Wochen alten Embryo kommt es durch Proliferation des Zölomepithels und Verdichtung des darunterliegenden Mesenchyms an der medialen Seite der Urnieren zum Auftreten der Genitalleisten. Urkeimzellen, die zuerst in der Wand des Dottersackes, nahe der Abgangsstelle der Allantois liegen, wandern über die Wand des Enddarmes und das dorsale Mesenterium durch amöboide Bewegungen in diese Formation ein. Die Urkeimzellen induzieren die weitere Organogenese, die über die sog. indifferente Gonade, bei genotypisch männlichem Geschlecht zur Differenzierung des Hodens führt. Diese Ent-

wicklung ist charakterisiert durch das Auftreten der Tunica albuginea, der Hodenkapsel, und der zunächst noch soliden Tubuli seminiferi, der Hodenkanälchen. (Hamilton, 1962). Unter hormonalem Einfluß testikulärer Inkrete kommt es zur Differenzierung des Genitaltraktes, zur Entstehung von Nebenhoden, Samenstrang und Samenblasen aus den Wolff'schen Gängen und zur Rückbildung der Müller'schen Gänge unter dem Einfluß eines hemmenden, in den Sertolizellen synthetisierten Faktors (Prader, 1971).

Der Descensus testis, das Herabsteigen der ursprünglich in der Lendenregion angelegten Keimdrüsen aus der Abdominalhöhle in das Skrotum, läßt drei markante Stadien erkennen:

1. Die Rückbildung der Urniere (Mesonephros) und des kranialen Urnieren-Keimdrüsenbandes, welches den kranialen Pol der Gonade an das Diaphragma fixierte (Hamilton, 1962).

2. Durch das rasche Wachstum des Embryonalkörpers im zweiten Entwicklungsmonat, bei dem sich das Gubernaculum testis, ein mesenchymaler Strang vom kaudalen Pol der Gonade bis in den Genitalwulst, nicht entsprechend verlängert, kommt es zu einer Verlagerung der fetalen Testes bis zu dem Anulus inguinalis profundus, dem inneren Leistenring. Am Anfang des dritten Monats hat der Hoden die Inguinalregion erreicht. Dort beginnt sich eine Aussackung der Zölomhöhle, der Processus vaginalis, bis in die Skrotalwülste hinein auszustülpen.

3. GegenEnde des siebten Monats passiert der Hoden den Inguinalring und setzt seinen Descensus über die Schambeinkante in den Skrotalwulst hinein fort. Im allgemeinen ist der Descensus in den letzten beiden Fetalmonaten beendet,

der Hoden ist im Skrotum angekommen und wird dort von den beiden Blättern des Processus vaginalis bedeckt (Langman, 1970).

Die physiologischen Faktoren, die den Descensus testis steuern, sind noch weitgehend unbekannt und Gegenstand kontroverser Diskussion. Im Widerspruch zu anderen Autoren verneinen einige (Wensing et al. 1977; Elger et al. 1977) die Steuerung des Descensus testis durch Androgene und Gonadotropine und haben versucht, dies in Tierexperimenten an Kaninchen und Schweinen zu belegen.

1.3. Als Ursachen für einen Maldescensus testis, also für alle Formen der Lageanomalie des Hodens werden vor allem drei Faktorengruppen verantwortlich gemacht (Bierich, 1967; Prader, 1971).

1. Anatomische oder mechanische Hindernisse des Abstiegs, wie eine Fehlanlage des Inguinalkanals, Persistenz des Processus vaginalis oder zu kurze Anhangsgebilde des Hodens (z.B. zu kurze A.spermatica).

2. Endokrine Ursachen werden zur Erklärung des doppelseitigen Hodenhochstandes herangezogen. Sichere Zusammenhänge sind noch nicht bewiesen. Bekannt ist aber, daß unter der Wirkung der beim Fetus reichlich vorhandenen Choriongonadotropine des Descensus gefördert wird. Ein Zusammenhang des Descensus mit der Wirkung der Gonadotropine wird auch durch die Erfolge der HCG-Therapie bei Hodenhochstand wahrscheinlich gemacht.

3. Hodendysgenesien und Hypoplasien der Keimdrüsen, also primär testikuläre Anomalien, führen häufig zum Kryptorchismus. Diese können als genetisch bedingte Anlage-

störungen, z.B. beim Klinefelter-Syndrom oder beim männlichen Turner-Syndrom auftreten, aber auch als in der Fetalzeit erworbene Läsionen.

1.4. Diagnostik des Hodenhochstandes.

Die Diagnose des Hodenhochstandes ergibt sich bei der körperlichen Untersuchung. Die manuelle Exploration muß dabei sowohl im Liegen wie im Stehen sorgfältig durchgeführt werden. Auf diese Weise lassen sich auch die verschiedenen Formen des Hodenhochstandes (Bierich, 1967; Knorr, 1970) unterscheiden. Beim Kryptorchismus lassen sich auf einer oder auf beiden Seiten keine Hoden palpieren. Bei Leisten- oder Inguinalhoden ist der Hoden in der Gegend des äußeren Leistenringes tastbar, lässt sich jedoch nicht ins Skrotum verlagern.

Beim Gleithoden läßt sich der vor dem äußeren Leistenring liegende Testikel unter Anspannung der Samenstranggebilde ins obere Skrotalfach verlagern, gleitet aber nach dem Loslassen sofort wieder in seine inguinale Lage zurück. Im Gegensatz dazu handelt es sich beim Pendelhoden um eine physiologische Variante, bei welcher der Hoden aufgrund eines kräftigen Kremaster-Reflexes häufig in inguinale Position gebracht wird.

Die hormonale Funktion der Testes läßt sich durch den Anstieg der Androgenkonzentration im Plasma nach einer Stimulation der Leydig-Zellen mit HCG (human choriongonadotropin) beurteilen. Obwohl die Leydig-Zellen einige Wochen nach der Geburt verschwinden und erst wieder mit Beginn der Pubertät erscheinen, vermögen sie doch im normalen Hoden auf eine Stimulation durch Entwicklung von Leydig-Zellen zu antworten. Gonadotropin-Untersuchungen bei Kindern und Jugendlichen waren bis vor kurzem nur von beschränktem Wert für die Beurteilung von Einzelfällen, weil die Basalwerte eine beträchtliche Überlappung des normalen und des pathologischen Bereichs zeigten.

Die Einfährung des LH-RH-Testes, bei dem LH und FSH im Plasma nach intravenöser Injektion des synthetischen Hypothalamus-Hormons LH-RH gemessen wurden, machte es aber möglich, pathologische Veränderungen schon vor der Pubertät zu erkennen: es zeigte sich, daß bei Kindern mit Hypophyseninsuffizienz das LH und FSH nur ungenügend stimuliert werden, umgekehrt reagierten Knaben mit Anorchie mit einer überschießenden LH- und FSH-Ausschüttung (Job et al., 1974). Bei Kindern mit Hodenhochstand läßt sich nun mit Hilfe des LH-RH-Testes die Hypophysenfunktion untersuchen, die Auskunft über das Vorliegen eines sekundären Hypogonadismus gibt.

1.5. Problemstellung

Bei der Entstehung der spastischen Tetraparese stehen pränatale und Geburtsschädigungen ätiopathogenetisch ganz im Vordergrund. In der Vorstellung, daß es sich bei dem Hodenhochstand der untersuchten tetraspastischen Kinder um eine im Zusammenhang mit der spastischen Tetraparese perinatal erworbene Störung handeln könnte, soll eine endokrinologische Untersuchung solcher Kinder Aufschluss über eine mögliche Ursache dieser Störung bringen.

Da den Gonadotropinen und den Androgenen derzeit noch besondere Bedeutung bei der Steuerung des Descensus testis beigemessen wird (Bierich, 1967; Josso, 1977), sollte das Verhalten dieser Hormone untersucht werden und ein hypothetisches Modell zur Ätiopathogenese des Hodenhochstandes bei tetraspastischen Kindern auf seine Validität überprüft werden, das folgendermaßen konzipiert wurde: Dieselben ursächlichen Faktoren, welche auch die Entwicklung einer spastischen Tetraparese bedingen, führen zu einer gleichzeitigen Schädigung jener hypothalamischen Zentren, die das hypophyseotrope Hormon LH-RH freisetzen. Die Sequenz LH-RH ⟶ LH ⟶ Testosteron, welche das Zusammenspiel der beteiligten endokrinen Drüsen reguliert, wäre damit gestört, konsekutiv käme es zu einem

Absinken von LH (luteinisierendes Hormon) und Androgenen, also jener Hormone, die den Descensus testis physiologischerweise steuern. Die entstehende endokrinologische Störung wäre als hypothalamisch bedingter hypogonadotroper Hypogonadismus zu bezeichnen. Dieser geht einher mit erniedrigtem LH-RH (luteinizing hormone releasing hormone) und erniedrigtem LH-, FSH- und Testosteronspiegel.

Folgende Punkte sollen bearbeitet werden, um einen möglichen Zusammenhang zwischen spastischer Tetraparese und Hodenhochstand - im Sinne der angegebenen Hypothese - zu verifizieren und möglicherweise pathogenetische Faktoren für dessen Entstehung angeben zu können.

1. Erhebung einer detaillierten Anamnese, um die methodische Erarbeitung eines Kausalzusammenhanges zwischen Anamnese und cerebraler Schädigung zu ermöglichen.

2. Die neurologischen Befunde sollten durch die Ergebnisse der letzten klinischen Untersuchung belegt werden.

3. Untersuchung des Genitale, insbesondere auf das Vorliegen eines Hodenhochstandes.

4. Untersuchung der hormonalen Funktion der Hypophyse auf eine Vorliegen einer Hypophyseninsuffizienz mit Hilfe des LH-RH-Testes.

5. Untersuchung der inkretorischen Funktion der Testes auf ein Vorliegen einer primären testikulären Insuffizienz mit Hilfe eines Leydig-Zellen-Stimulationstestes mit HCG.

6. Bestimmung der Androgene und Gonadotropine im Plasma mit empfindlichen radioimmunologischen Methoden.

7. Die Untersuchungsergebnisse aus Punkt 4 und 5 sollen auch Aufschluß über die Funktion der hypothalamischen Zentren geben, welche hypophyseotrope Hormone freisetzen (LH-RH, FSH-RH; releasing hormones) und damit die Gonadotropinfreisetzung aus dem Hypophysenvorderlappen regeln.

2. Patienten und Material

2.1.1. Patienten

Es wurden 9 Jungen im Alter zwischen 4 1/12 und 9 10/12 Jahren untersucht. Die Kinder waren Patienten der Poliklinik der Univ-Kinderklinik Tübingen, in der Sprechstunde für Entwicklungsstörungen im Kindesalter.
Bei allen 9 Patienten bestand die neurologische Diagnose einer spastischen Tetraparese. Das Genitale der Patienten wurde insbesondere auch auf das Vorliegen eines Maldescensus testis untersucht. Die Ergebnisse der neurologischen Untersuchung sowie evtl. zusätzlicher Untersuchungen (Röntgenaufnahmen, EEG) wurden übernommen, da die Patienten ohnehin unter häufiger ärztlicher Überwachung standen.

Ferner wurde bei allen Patienten eine ausführliche Anamnese erhoben (siehe 2.1.2.). Bei 8 Patienten wurde das Blutplasma auf Testosteron und 5α-Dihydrotestosteron vor und nach einem Leydig-Zell-Funktionstest untersucht, bei einem Patienten nur unter Basalbedingungen. Zur Durchführung des Tests wurde in zweitägigem Abstand 3 x je 1500 IU HCG (human choriongonadotropin) intramuskulär injiziert. Weiterhin wurden im Plasma der Patienten die Gonadotropine LH und FSH unter Basalbedingungen und bei Durchführung eines LH-RH-Testes bestimmt. Zur Durchführung des LH-RH-Tests wurde eine Braun'sche Kanüle in eine Cubitalvene gelegt und 50 ug synthetisches LH-RH pro 1 m^2 Körperoberfläche durch die Kanüle i.v. injiziert. An-

schließend wurden langsam 0,9% Kochsalzlösung infundiert und die Plasmagonadotropinkonzentration in den z.Z. t = 0, 10, 20, 30 und 60 min entnommenen Blutproben getrennt für LH und FSH bestimmt.

2.1.2. Anamneseerhebung

Es wurde eine ausführliche Anamnese anhand eines Fragebogens erhoben. Die anamnestischen Daten wurden teils den Krankenblättern entnommen, teils von den Eltern erfragt.
Der Fragebogen zur Erfassung der Anamnese wurde in weitgehender Anlehnung an die Liste der optimalen obstetrischen Bedingungen in der Abteilung für Entwicklungsstörungen der Tübinger Univ-Kinderklinik unter Herrn Professor Michaelis erstellt. Die Liste erfuhr dabei gegenüber der jenigen von Prechtl eine Erweiterung zur Erfassung postnataler Bedingungen, um sie auch auf Frühgeborene und postnatal auffällige Kinder anwenden zu können. Nach Prechtel lässt sich die obstetrische Komplikation definieren als Faktor oder Gruppe von Faktoren, die das Mortalitätsrisiko des Foetus erhöhen. Einige dieser Faktoren sind unabhängig voneinander, andere stehen untereinander in kausaler Relation. Deshalb ersetzt Prechtl den nur schwer zu fassenden Begriff der obstetrischen Komplikation durch eine Angabe der Optimalität der obstetrischen Bedingungen. Eine Abweichung von den in der Liste angegebenen Kriterien wird als nicht optimale obstetrische Bedingung angesehen. Eine große Summe optimaler Bedingungen, die nach Abzug der nicht optimalen verbleibt, bedeutet für das einzelne Kind eine geringe Risikobelastung hinsichtlich Morbidität und Mortalität. Unbesehen des Schweregrades der nicht optimalen obstetrischen Bedingungen wird jede mit einem Minuspunkt bewertet.

Eine größere Risikobelastung, gegeben durch eine größere Summe nicht optimaler Faktoren, indiziert in statistischer

Hinsicht eine erhöhte Wahrscheinlichkeit einer Geburtskomplikation oder einer Gefährdung des Kindes in der postnatalen Phase. Sie gibt keine Auskunft über den tatsächlichen Geburtsverlauf oder die Entwicklung des Kindes (Prechtl, 1968). So durchläuft die Mehrzahl der Risikokinder eine normale Entwicklung. Behinderungen werden nur bei wenigen dieser Kinder manifest.

Umgekehrt findet sich in der Anamnese von Kindern mit manifester neurologischer Schädigung eine reduzierte Optimalität, wenn dieser Schädigung keine genetisch fixierte Erkrankung zugrunde liegt. Die Auswertung der Anamnese erfolgt anhand des folgenden Fragebogens.

Liste der optimalen obstetrischen Bedingungen in weitgehender Anlehnung an Prechtl.

Mütterliche Anamnese

1. Zahl der Schwangerschaften nicht mehr als 4
2. Keine volle oder teilweise Berufstätigkeit
3. Keine sehr schlechte soziale Stellung oder soziale Bedingungen
4. Nicht ledig, nicht getrennt lebend
5. Mütterliches Alter bei Erstgebärender nicht unter 18 und nicht über 30 Jahre, bei Mehrgebärender nicht unter 20, nicht über 30 Jahre.
6. Keine Früh-, Tot-, Fehlgeburten in der Anamnese
7. Keine Komplikationen bei früheren Schwangerschaften oder Geburten
8. Keine pathologischen Beckenmaße
9. Keine unerwünschte Sterilität von mehr als 2 Jahren, nicht mehr als 5 Jahre seit der letzten Schwangerschaft
10. Keine schweren chronischen Erkrankungen (Diabetes, endokrinologische Erkrankungen, Herzfehler, chronische Polyarthritis u.ä.).

Schwangerschaftsanamnese

11. Ärztliche Überwachung mehr als 3 x
12. Keine Gestose (Blutdruck nicht über 140/90 mm Hg, keine Ruheödeme, keine Albuminurie mehr als eine Spur)
13. Keine schwere oder chronische Anämie (Hb nicht weniger als 8 g%)
14. Keine Blutungen, keine drohende Frühgeburt, keine Tokolyse
15. Keine schweren Infektionen
16. Keine schweren Erkrankungen (Unfall, Operation, Narkose, stationär zu behandelnde Hyperemesis)
17. Keine Röntgenuntersuchung im 1. Trimenon
18. Keine Medikamente im 1. Trimenon, kein Medikamentenmissbrauch, kein Mißbrauch mit Alkohol, Nikotin, Drogen
19. Keine schwere, über Wochen anhaltende psychische Streßsituation
20. Kein Anhalt für intrauterine Streßsituation (Oestriol, HPL, Ultraschall, CTG)

Geburtsanamnese

21. Kein Hydramnion
22. Keine Mehrlingsschwangerschaft
23. Keine primäre oder sekundäre Wehenschwäche
24. Blasensprung nicht 12 Stunden vor der Geburt
25. Eröffnungsperiode nicht kürzer als 6 Std. und nicht länger als 12 Std.
26. Austreibungsperiode nicht kürzer als 10 min, nicht länger als 1 Std.
27. Keine operative Entbindung
28. Unauffälliges Fruchtwasser
29. Keine Medikamente unter der Geburt
30. Kein Anhalt für eine fetale Gefährdung (CTG, Ammioskopie, Alteration der Herzfrequenz).

K i n d l i c h e A n a m n e s e

31. Gestationsalter nicht unter 38 und nicht über 41 Wochen
32. Geburtsgewicht nicht unter der 10. und nicht über der 90.Perzentile
33. Keine Einstellungsanomalie
34. Keine vorzeitige Placentalösung, keine Placenta praevia
35. Keine Nabelschnuranomalien (Umschlingung, Verfärbung, Knoten)
36. Keine Placentaanomalien (Infarkte, nicht zu klein, nicht zu groß, nicht ödematös)
37. Apgar in der 1. min nicht unter 7, in der 5. min nicht unter 8
38. Keine künstliche Beatmung oder Intubation sofort nach Geburt notwendig
39. Keine medikamentöse Behandlung einer Azidose sofort nach Geburt
40. Kein Abfall der Körpertemperatur unter 36°C (Transport, Asphyxietherapie).

P o s t n a t a l e A n a m n e s e

41. Keine schwere Hypoxie, Azidose oder Atemnotsyndrom, die eine medikamentöse oder maschinelle Behandlung notwendig machte
42. Komatös länger als 24 Std.
43. Keine Apnoen
44. Keine Krampfanfälle
45. Blutzucker nicht unter 20 mg%
46. Hämatokrit nicht über 70%
47. Keine ausgeprägte Trinkschwäche oder Gedeihstörung
48. Gesamtbilirubin nicht über der Beobachtungszone mit und ohne Austauschtransfusion
49. Keine ausgeprägt pathologischen blutchemischen Abweichungen
50. Keine anderen lebensgefährdenden Erkrankungen in der Postnatalphase (z.B. Sepsis, Operation)

2.2. Material

2.2.1. Hormonpräparate zur Durchführung der diagnostischen Teste:
- Choriongonadotropin (Primogonyl^{R}, Schering)
- Hypothalamisches Gonadotropin releasing hormone (LH-RH, Hoechst).

2.2.2. Blutproben

Die venösen Blutproben wurden während des LH-RH-Testes zur Zeit t = 0, 10, 20, 30, 60 min entnommen und in heparinisierten Glasröhrchen aufgefangen. Zum Zeitpunkt t = 0,also vor der Injektion des synthetischen LH-RH, wurden ca 8 ml Blut (für Androgen- und Gonadotropinbestimmung) zu den übrigen Zeiten nur ca 3 ml Blut durch die angelegte Braun'sche Kanüle entnommen.

Die Blutprobe nach dem Leydig-Zell-Funktionstest wurde 24 Stunden nach der letzten HCG-Injektion entnommen.

Die entnommenen Blutproben wurden bei 2000 U/min zentrifugiert, anschließend wurde das überstehende Plasma abpipettiert und in Plastik-Röhrchen bei -20°C bis zur Aufbereitung eingefroren.

2.2.3. Kristalline Steroide

Als Standardpräparate zur Erstellung der Standardkurven wurden folgende Steroide verwendet:

Tabelle 1

Freiname	Chemische Bezeichnung	Im Text verwendete Abkürzung
Testosteron	17β-Hydroxy-androst-4-en-3on	T
5α-Dihydrotestosteron	17β-Hydroxy-5α androstan-3-on	DHT

Diese Steroide wurden von der Firma Merck geliefert. Es wurde eine Vorratslösung mit einer Konzentration von 1 mg/1 ml hergestellt, indem jeweils 10 mg kristallinen Steroids in 10 ml absolutem Alkohol gelöst wurden. Gebrauchslösungen wurden durch weitere Verdünnung der Vorratslösung auf eine Konzentration von 10 ng/ml bzw. 1 ng/ml hergestellt. Die Lösungen wurden im Kühlraum bei $4^{o}C$ aufbewahrt.

2.2.4. Tritiummarkierte Steroide

Testosteron-(1,2-^{3}H) mit einer spezifischen Aktivität von 40-60 Ci/mM und 1,2-$^{3}H(N)5\alpha$-Dihydrotestosteron (50-60 Ci/mM) wurden von der New England Nuclear Corporation geliefert.

Die radioaktiven Steroide wurden in einer alkoholischen Vorratslösung in einer Konzentration von 20 uCi/ml im Kühlraum aufbewahrt. Gebrauchslösungen mit 500 cpm/50 ul, für die Verwendung als Radioindikator zur Bestimmung des analytischen Verlustes und mit 6000 cpm/10 ul, zur Verwendung als Tracer bei der radioimmunologischen Bestimmung, wurden durch weitere Verdünnung mit absolutem Alkohol erreicht.

Die Gebrauchslösung mit 500 cpm/50 ul wurde jeden Monat durch Säulenchromatographie mit Sephadex LH-20 gereinigt. Das Eluat wurde eingedampft und das an den Wänden des Reagenzglases kristallin niedergeschlagene Steroid wurde erneut in reinem Alkohol gelöst.

2.2.5. Antiseren

Für die radioimmunologische Bestimmung von Testosteron und Dihydrotestosteron wurde das gleiche Antiserum verwendet. Das Antiserum wurde von Dr.Nieschlag zur Verfügung gestellt und durch Immunisierung von Kaninchen mit Testosteron-3-

Albumin oder Testosteron-3-Hemocyanin-Konjugaten gewonnen (Nieschlag et al., 1972).
Eine Verdünnung in 0,1 %iger Gamma-Globulinlösung auf 1:1000 diente als Vorratslösung.
Für jede Durchführung einer radioimmunologischen Bestimmung wurde eine neue Arbeitslösung mit einer Verdünnung von 1:30000 hergestellt.

2.2.6. Chemikalien und Reagenzien
Die Lösungsmittel wurden in analytischem Reinheitsgrad von der Firma Merck erworben und ohne weitere Reinigung verwendet. (n-Hexan für Spectroskopie, Methanol (p.a.) und Essigsäureäthylester (p.a.)).
Zur Verwendung als Laufmittel für die Säulenchromatographie wurde aus den o.a.Lösungsmitteln ein Lösungsmittelgemisch im Verhältnis 95:5:5 (System 1) unmittelbar vor Gebrauch hergestellt.
Die Säulenchromatographie wurde auf Sephadex LH-20 durchgeführt (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden).
Dazu ließ man 10 g Sephadex LH-20 in 100 ml System 1 für mindestens 3 Stunden quellen,bevor es zur Füllung der Säulen verwendet wurde.
Zur Adsorption des freien Steroids im Radioimmunoassay wurde eine Kohle-Dextran-Suspension in 0,1%ger Globulinlösung verwendet.
Zur Herstellung dieser Suspension wurden 50 mg Aktivkohle Norit A (Serva, Feinbiochemica, Heidelberg) und 50 mg Dextran T 70 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala) in 20 ml 0,1%er Gamma-Globulinlösung gegeben.
Zur Herstellung der Gammaglobulinlösung wurden 500 mg Gamma-Globulin (bovines Gamma-Globulin, Cohn Fraktion II, Sigma Chemical Company) in 500 ml 0,9%ger NaCl-Lösung gelöst. Diese Lösung wurde jeden Monat erneuert.

2.2.7. Glaswaren
Zur Säulenchromatographie wurden Glassäulen mit Fritte (Quickfit, England) mit einer Länge von 14 cm und einem Innendurchmesser von 1,1 cm benutzt. Die Säulen waren mit einem Vorratsgefäß mit einem Fassungsvermögen von 200 ml versehen.
Zur Extraktion wurden Spitzgläser mit Schliff verwendet, die mit einem Glasstöpsel zu verschließen waren. Bei der Säulenchromatographie wurden graduierte Reagenzgläser verwendet. Alle Glaswaren wurden vor der Benutzung 2 x gründlich mit Methanol gespült.

2.2.8. Messung der Radioaktivität.
Die Messungen wurden in einem Flüssigkeits-Szintillations-Spectrometer der Firma Packard, Modell Tricarb 3003 durchgeführt. Zur Herstellung der Szintillationsflüssigkeit wurden 250 mg Dimethyl-POPOP-(2,2'-p-Phenylen-bis(4-methyl-5-phenyloxyzol) (Firma Merck) und 12,5 g PPO 2,5(Diphenyloxazole, Packard Instruments Company) in 2,5 Liter Toluol (p.a., Firma Merck) gelöst.
Die jeweilige radioaktive Probe wurde in 10 ml der Szintillationsflüssigkeit in einem Plastikzählröhrchen mindestens 2 x 5 min lang gezählt.

3. M e t h o d e
Die radioimmunologische Bestimmung der Steroide Testosteron und DHT erfordert:
1. die Isolierung der zu bestimmenden Steroide vom Plasma durch Extraktion,
2. Auftrennung und Reinigung der Steroide durch Säulenchromatographie,

3. Die eigentliche quantitative Bestimmung des Hormons im Radioimmunoassay

3.1. Extraktion

Im biologischen Milieu des Plasmas sind die Steroide mit einer 17ß-Hydroxyl-Gruppe (Testosteron, DHT, Oestradiol-17ß) zum Teil an ein spezifisches ß-Globulin, das "testosteronbindende Globulin" oder TeBG gebunden. Die Extraktion mit Essigsäureäthylester, einem leicht flüchtigen Lösungsmittel erreicht die Lösung dieser Bindung an spezifisches Plasmaprotein und die Isolierung aller freien, nicht konjugierten Steroide vom Plasma.
Durch Abdampfen des Lösungsmittels werden die herausgelösten Substanzen wiedergewonnen.
Die Extraktion erfolgte aus einem Plasmavolumen von 2 ml in Spitzgläsern mit Schliff. Jeder Plasmaprobe wurden 50 ul markierten Testosterons und 50 ul markierten Dihydrotestosterons mit je 500 cpm/50 ul zugegeben. Das gleiche Volumen kam in je ein Zählröhrchen für Testosteron und DHT.
Die Zugabe der radioaktiven Verbindung dient der radioaktiven Wiederfindung, welche die Korrektur des analytischen Verlustes bei der Extraktion und der Auftrennung durch Säulenchromatographie ermöglicht. Dazu wird nach der chromatographischen Auftrennung je eine definierte Probe aus der Fraktion des Tesotsterons und der Fraktion des DHT entnommen, deren Radioaktivität gemessen und diese "wiedergefundene Radioaktivität"auf den Ausgangswert der eingegebenen Radioaktivität rückbezogen. Diese Korrektur ist nur möglich, wenn sich zugegebenes markiertes Steroid und endogenes Steroid bei der Extraktion und Säulenchromatographie identisch verhalten und mindestens eine halbe Stunde inkubiert wurde, um eine gleichmässige Durchmischung zu erzielen (Eskins et al., 1970).

Nach der Inkubation wurde die Plasmaprobe nach Zugabe von 20 ul 1N NaOH kurz geschüttelt.
Die Plasmaprobe wurde dann zweimal mit je 5 ml Essigsäureäthylester durch fünfminütiges Schütteln auf dem Vortex-Schüttler extrahiert. Die Schliffgläser waren dabei mit Glasstöpseln verschlossen. Das Plasma wurde durch fünfminütiges Zentrifugieren nach jeder Extraktion abgetrennt, der Überstand, die Essigäsureäthylesterphase, in ein Spitzglas dekantiert.
Die beiden Essigsäureäthylesterphasen aus der ersten und zweiten Extraktion wurden je zweimal mit 1 ml Aqua dest. gewaschen und dann der Überstand aus der zweiten Extraktion in das Spitzglas mit dem Überstand der ersten Extraktion dekantiert. Das Spitzglas wurde mit 1 ml Essigsäureäthylester nachgespült und dieser der Essigsäureäthylesterphase hinzugefügt. Im Wasserbad wurde das gesamte Extrakt abschließend eingedampft.

3.2. Säulenchromatographie zur Auftrennung der Steroide

3.2.1. Prinzip:

Verschiedenartige Substanzen besitzen in Lösung ein sehr unterschiedliches aber reversibles Haftvermögen gegenüber bestimmten Adsorptionsmitteln. Die Trennung der Substanzen beruht auf ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit, wobei diese mit abnehmender Affinität zu dem Adsorptionsmittel zunimmt. Dadurch wird es möglich, die auf eine Chromatographiesäule aufgetragenen Substanzen in getrennten Fraktionen aufzufangen.
Zur Auftrennung und Reinigung der aus dem Plasma extrahierten Steroide wurde die von Carr et al. (1971) beschriebene Methode gewählt: sie benützt als stationäre Phase Sephadex LH-20, ein Dextranderivat, welches in polaren Lösungsmitteln aufquillt; als bewegliche Phase ein Gemisch aus Hexan, Essigsäureäthylester und Methanol im Verhältnis 95:5:5 (System 1).

3.2.2. Präparation der Chromatographie-Säulen

Die Chromatographie-Säulen wurden vor der Füllung mit Sephadex-LH 20 je zweimal mit Aqua dest., Methanol p.a. und System 1 gewaschen. Die Säulenvorratsgefäße wurden der gleichen Behandlung unterworfen.

Nach diesem Reinigungsvorgang wurden Säule und Vorratsgefäß mit System 1 gefüllt. Das zuvor in System 1 aufgeschwemmte Sephadex LH-20 (siehe 2.2.6) wurde mit einer 20 ml-Pipette aufgenommen und - bei geöffnetem unteren Absperrhahn - in die Säule eingebracht und schrittweise bis zu einer Höhe von mindestens 11 cm in der Säule aufgeschichtet. Dabei durfte der Flüssigkeitsspiegel des Laufmittels (System 1) während des Füllens der Säule nie unter das Niveau des Gelbettes absinken. Die fertig geschichtete Säule wurde mit 100 ml System 1 gewaschen, indem man dieses Quantum aus dem aufgesetzten Vorratsgefäß durch die Säule in ein graduiertes Becherglas nachfließen ließ. Die Flüssigkeit über dem Sephadex-Gelbett der gefüllten Säule sollte mit dem Flüssigkeitszylinder des Vorratsgefäßes kontinuierlich in Verbindung stehen, um auf diese Weise eine gut zu kontrollierende konstante Flußgeschwindigkeit des Laufmittels in der Säule zu erreichen und jegliches Aufwirbeln des Gelbettes durch nachtropfende Flüssigkeit aus dem Vorratsgefäß zu verhindern. Abschließend wurde das Gelbett auf eine Höhe von 10 cm eingestellt, das überschüssige Sephadex LH-20 mit einer Pasteurpipette abgehoben.

Vor dem jeweiligen Auftragen der Substanzen zur chromatographischen Trennung wurde die Flüssigkeit über dem Gelbett mit einer Pasteurpipette abgehoben. Die Oberfläche durfte dabei nicht antrocknen, das Auftragen musste deshalb zügig erfolgen.

3.2.3. Untersuchung des chromatographischen Verhaltens von Testosteron und DHT

Mit den so präparierten Säulen wurde zunächst ein Elutionsdiagramm erstellt. Dazu wurden 100 ul einer alkoholischen Lösung radioaktiv markierten Testosterons (50 cpm/50 ul) in einem Spitzglas mit Schliff eingedampt, dann in 100 ul System 1 durch gründliches Schütteln auf dem Vortex-Schüttler gelöst und mit einer 100 ul Eppendorf-Pipette auf die Säule aufgebracht, der Rückstand im Spitzglas wurde erneut in 100 ul System 1 gelöst und als zweite Portion auf die Säule gebracht. Der am unteren Säulenende angebrachte Absperrhahn blieb geschlossen und wurde nach dem Auftragen der Probe geöffnet, bis diese 200 ul eben in das Sephadex eingelaufen waren. Mit ungefähr 0,5 ml des Laufmittels wurden die Innenwände der Glassäule - bei gleichzeitig geöffnetem unteren Absperrhahn - nachgespült, dann der Flüssigkeitsspiegel über dem Gelbett in der oben beschriebenen Weise eingestellt und durch das aufgesetzt Vorratsgefäß aufrechterhalten.

Gleichzeitig mit dem Einlaufen der aufgetragenen Probe in das Sephadex-Gelbett wurde begonnen, in graduierten 10 ml Reagenzgläsern 1 ml-Fraktionen zu sammeln. Die Aktivität der in Plastikzählröhrchen dekantierten Fraktionen wurde gemessen und in einem Diagramm gegen die Menge des Eluats aufgetragen. Ebenso wurde mit DHT und einer Kombination beider Steroide verfahren. Dieses Vorgehen machte deutlich, daß die beiden Fraktionen in getrennten Fraktionen eluiert werden (Abb.1) und erlaubte eine quantitative Festlegung dieser Fraktionen, mithin also eine Eichung der Säulen für die spätere Auftrennung (Tab.2).

Die Fraktionen, in denen die Steroide eluiert wurden, blieben aber nur konstant bei Einhaltung einer gleichmässigen, nicht zu schnellen Laufgeschwindigkeit des Laufmittels von 30-35 Tropfen/min.

3.2.4. Auftrennung des Plasmaextraktes

Der Rückstand aus der Plasmaextraktion wurde in der unter 3.2.3. beschriebenen Weise in zweimal 100 ul System 1 gelöst, in 2 Portionen auf die Säule aufgetragen und in den bei der Eichung gefundenen Fraktionen eluiert.

Die Fraktionen wurden in graduierten 10 ml-Reagenzgläsern aufgefangen. Die Fraktionen 1 und 3 wurden verworfen, die Fraktionen 2 und 4 im Wasserbad bei 37°C eingedampft.

Fraktion 2 enthielt DHT, Fraktion 4 Testosteron.

Die Sephadex-Säulen wurden bis zu dreimal für die chromatographische Auftrennung des Plasmaextraktes verwendet.

Tabelle 2

Eluierung der Sephadex LH-20-Säule in getrennten Fraktionen

Nr. der Fraktion	1	2	3	4
Volumen d.gesamten Eluats	21 ml	33 ml	35 ml	46 ml
Volumen d.Fraktion	21 ml	12 ml	2 ml	11 ml
Eluiertes Steroid	-	DHT	-	Testo

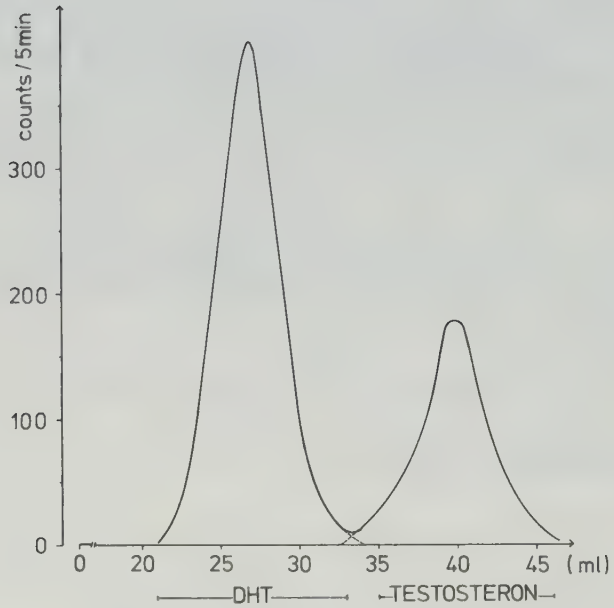


Abb.1: Chromatographische Auftrennung von markiertem Testosteron und Dihydrotestosteron auf einer Sephadex-LH-20-Säule mit einem Gemisch aus Hexan, Methanol und Essigsäureäthylester im Verhältnis 95:5:5.
Eine wesentliche Überschneidung beider Fraktionen liegt nicht vor. (Abszisse: Menge des Eluats in ml; Ordinate: Radioaktivität in counts/5').

3.3. Radioimmunologische Bestimmung

3.3.1. Radioimmunologische Methode

Die erste radioimmunologische Bestimmungsmethode zur quantitativen Bestimmung des Proteohormons Insulin wurde 1960 von Yalow und Berson angegeben. In der Folgezeit wurden Methoden entwickelt, die auch die radioimmunologische Bestimmung von Steroidhormonen ermöglichten. 1970 beschrieben Furuyama, Mayes und Nugent eine radioimmunologische Methode zur Bestimmung von Testosteron.

Hierbei handelt es sich um eine Isotopenverdünnungsmethode, wobei radioaktiv markiertes Hormon in einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion um die Bindung am Hormon-Antikörper kompetieren.
Das Prinzip der Reaktion wurde von Berson (1960) folgendermaßen veranschaulicht:

Abb.2:

$$H^* + AK \rightleftharpoons H^*\text{-}AK$$

$$+\ H \rightleftharpoons H\text{-}AK$$

H ist das unmarkierte Hormon im Plasma oder die Standardmenge des Hormons, das quantitativ bestimmt werden soll.
H*, das analoge aber mit Tritium markierte Hormon, ermöglicht als Radioindikator die quantitative Messung der jeweiligen Reaktion mit dem Antikörper.
Markiertes und unmarkiertes Hormon, die sich in ihren chemischen und physikochemischen Eigenschaften nicht unterscheiden, konkurrieren um die gleichen Bindungsstellen am spezi-

fischen Antikörper. Gibt man zu einer Probe markiertes Hormon und Antikörper in definierter Menge, so stellt sich aufgrund des Massenwirkungsgesetztes ein charakteristisches Gleichgewicht zwischen freiem markierten und gebundenem markierten Hormon ein, abhängig von der Menge an unmarkiertem Hormon in der Probe.

Nimmt die Menge des unmarkierten Hormons in der Probe (endogenes Hormon, Standardmenge eines Hormons) bei gleichbleibender Menge von markiertem Hormon und Antikörper zu, so kommt es zu einer stärkeren kompetitiven Verdrängung von markiertem Hormon von den Bindungsstellen des Antikörpers, es wird also weniger radioaktiv markiertes Hormon gebunden, ein neuer Gleichgewichtszustand stellt sich ein.

Der Quotient (H*-AK/H*) x 100 (gebundenes markiertes Hormon/ Gesamtmenge markierten Hormones) gibt die prozentuale Bindung der zugegebenen Menge des markierten Hormons an und ist ein charakteristischer Parameter für die jeweilige Menge an endogenem Hormon.

Das freie Hormon wurde an dextranüberzogene Aktivkohle adsorbiert (Herbert, 1968) und durch Zentrifugation vom gebundenen Hormon abgetrennt. Die Radioaktivität des im Überstand verbleibenden gebundenen Hormons wurde im Flüssigkeitsspektrometer gemessen.

Die prozentuale Bindung läßt sich für eine Reihe von Standardwerten mit bekannter Hormonkonzentration bestimmen. Trägt man die jeweilige prozentuale Bindung in einem Diagramm gegen die zugehörige Standardmenge des Hormons auf, so erhält man eine Standardkurve.

Die Konzentration von unmarkiertem Hormon in einer unbekannten Probe läßt sich dann durch den Vergleich mit der prozentualen Bindung einer Probe mit bekannter Standardlösung bestimmen.

3.3.2. Durchführung des Radioimmunoassays
Jeder Assay wurde als Doppelbestimmung ausgeführt. Zur Qualitätskontrolle wurde jeweils ein Leerwert und ein Wert mit einer Hormonmenge von 500 pg Testosteron bzw. DHT mitgeführt.

3.3.2.1. Vorbereitung des Ansatzes für den Radioimmunoassay
a) Vorbereitung für die Standardkurve.
In einem Ständer wurden 22 Reagenzgläser bereitgestellt, jeweils zwei Reagenzgläser wurden identisch beschriftet mit Ziffern von 1-11. Es wurden zwei Standardlösungen benutzt. Standardlösung 1 enthielt 1 pg Testosteron bzw. DHT pro 1 ul Äthanol, Standardlösung 2 enthielt 10 pg Testosteron bzw. DHT pro 1 ul Äthanol.
Standardwerte von 5, 10, 20, 50 pg wurden aus Standardlösung 1 pipettiert, Standardwerte von 100, 200, 300, 400, 500 und 1000 pg wurden aus Standardlösung 2 pipettiert.

Die Standardlösung eines Steroids wurde in Duplikaten in die bereitgestellten Reagenzgläser pipettiert, für Testosteron über den Bereich von 0-1000 pg in einer ansteigenden Reihe: 0,10,20,50,100,200,300,400,500,1000 pg. Für die erfahrungsgemäß niedrigeren Serum-DHT-Konzentrationen wurde nur bis 500 pg pipettiert, jedoch wurde ein Wert von 5 pg in die Reihe eingefügt. Die Reagenzgläser mit der Ziffer 11 blieben leer, sie wurden mitgeführt, um den für die Berechnung notwendigen Wert der Gesamtmenge eingegebenen markierten Hormons bestimmen zu können (Totalwert).

Der Inhalt der Reagenzgläser wurde im Wasserbad bei 37°C eingedampft.

b) Vorbereitung für die Bestimmung von T und DHT im Plasma.
Die aus der säulenchromatographischen Auftrennung nach dem Eindampfen verbliebenen Rückstände der Fraktion 2 (DHT) und Fraktion 4 (Testosteron) (siehe Tab.2) wurden in je 1 ml Methanol durch gründliches Schütteln auf dem Vortex-Mixer gelöst, dabei mußte das Methanol mit der gesamten Innenwand des Reagenzglases ausreichend in Kontakt kommen, um das gesamte beim Eindampfen an der Reagenzglaswand kristallin niedergeschlagene Steroid wieder in Lösung zu bringen.

Davon wurden zur Messung der wiedergefundenen Radioaktivität, welche die Berechnung des analytischen Verlustes ermöglicht, 100 ul (10% der Gesamtmenge) in je ein Zählröhrchen für DHT und Testosteron pipettiert und deren Radioaktivität im Flüssigkeitsspektrometer gemessen.
Für den Ansatz zur Bestimmung von Testosteron wurden je 100 ul der Lösung in zwei identisch beschriftete Reagenzgläser pipettiert (10% der Gesamtmenge).

Für den Ansatz von DHT wurden aufgrund der zu erwartenden niedrigen Plasmawerte zur Doppelbestimmung 200 ul und 400 ul (20 und 40% der Gesamtmenge) der Lösung verwendet, die Reagenzgläser wurden entsprechend gekennzeichnet. Diese Mengen wurden ebenfalls im Wasserbad eingedampft.

3.3.2.2. Zugabe von markiertem Hormon und Antikörper.
In jedes der so vorbereiteten Röhrchen mit vollständig getrocknetem Rückstand wurden 10000 cpm tritiummarkierten Testosterons in 0,5 ml 0,1%er Gamma-Globulin-Lösung pipettiert. Nach mindestens zehnminütiger Inkubation im Kühlraum bei 4°C wurden 0,5 ml Antikörper in einer Verdünnung von

1:30000 hinzugegeben (siehe 2.2.5.). Die Röhrchen wurden dann auf dem Vortex-Mixer geschüttelt und mindestens weitere 18 Stunden bei 4°C inkubiert. Das Vorgehen für die Bestimmung von DHT entspricht demjenigen für Testosteron, da sich Testosteron und DHT immunologisch identisch verhalten und die relative Bindungsaffinität des DHT zum Antikörper der des Testosterons äquivalent ist (Nieschlag et al., 1972).

3.3.2.3. Trennung des freien vom gebundenen Hormon
Wie unter 3.3.1. beschrieben wird das freie Hormon durch Zugabe von 0,2 ml Kohle-Dextran-Gemisch adsorbiert und läßt sich durch Zentrifugation vom gebundenen Hormon trennen. Nach der Zugabe des Kohle-Dextran-Gemisches, nach 18-stündiger Inkubation, wurden die Reagenzgläser kurz geschüttelt und dann in Zentrifugeneinsätze gestellt. Eine zehnminütige Reaktionszeit erwies sich als ausreichend, um eine vollständige Adsorption des freien Hormons zu erzielen.

In das Reagenzglaspaar mit der Ziffer 11 wurden anstatt des Kohle-Dextran-Gemisches 0,2 ml 0,1%er Gamma-Globulinlösung pipettiert, um einen Bezugswert für die Gesamtmenge der eingegebenen Radioaktivität zu erhalten (Totalwert).

Nach dem 10-minütigen Intervall wurde das Lösungsgemisch in den Reagenzgläsern 20 min bei 2000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurden vom Überstand jedes Röhrchens, der das gebundene Hormon enthält, mit der Pipette 0,5 ml Flüssigkeit entnommen und in entsprechend beschriftete Zählröhrchen pipettiert. Die Radioaktivität wurde im Flüssigkeitsspektrometer gemessen.

3.3.4. Berechnung der Proben.
Trägt man in einem Diagramm die prozentuale Bindung der tritiummarkierten Steroide (Testosteron-(1,2-^{3}H), 5α-Dihydrotestosteron (1,2-^{3}H)) gegen bekannte Standardmengen der Hormone auf, so erhält man eine Standardkurve, welche die weitere Berechnung unbekannter Hormonkonzentrationen in Plasmaproben ermöglicht. Die prozentuale Bindung, die für repräsentative Standardwerte im Radioimmunoassay bestimmt wurde (siehe 3.3.2.1.), ergibt sich als Quotient aus der Menge des jeweiligen gebundenen markierten Hormons und der Gesamtmenge des eingegebenen markierten Hormons: AK-H*/H* (siehe 3.3.1.). Dieser Quotient wird auch als B/T (bound/total) angegeben. Die Prozentangabe B/T · 100 ergibt die prozentuale Bindung des markierten Steroids in einer bestimmten Probe. Kennt man die prozentuale Bindung des markierten Steroids in einer unbekannten Plasmaprobe, so läßt sich die zugehörige Hormonmenge aus der Standardkurve im Diagramm ablesen.

Berücksichtigt man den Leerwert, den analytischen Verlust, das zur Bestimmung eingegebene Plasmavolumen und den Anteil A des durch Extraktion und Säulenchromatographie isolierten Steroids, der für die radioimmunologische Bestimmung abgezweigt wurde (siehe 3.3.2.1.b), so läßt sich damit die Hormonkonzentration errechnen. Es ergab sich folgende Formel:

$$\text{pg/100 ml} = (\text{abgelesener Wert} - \text{Leerwert}) \times 1/A \times \frac{100}{\%\text{Recovery}} \times \frac{100}{\text{eingegebenes Plasmavolumen}}$$

Die Hormonkonzentration wurde in ng/100 ml Plasma angegeben. Der errechnete Wert mußte also noch durch 1000 dividiert werden.

3.3.5. Methode der LH-FSH-Bestimmung
Die Gonadotropine LH und FSH im Serum der Patienten wurden in der Abteilung für endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik der Univ-Kinderklinik Tübingen bestimmt. Die Ergebnisse wurden mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Bestimmung erfolgte mit einer Doppelantikörper-RIA-Methode nach Midgley (1967).

3.3.6. Angaben bei statistischen Darstellungen (Sachs, 1976)
n = Anzahl der Stichproben (Messungen)
$\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert der Stichproben (Messungen)
s_x = Standardabweichung der Stichprobe
$s_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Stichprobenmittelwertes $\bar{x}$
V = relativer Variationskoeffizient (Standardabweichung in Prozenten des arithmetischen Mittels).

4. Ergebnisse

4.1. Methodische Ergebnisse

4.1.1. Radioaktive Wiederfindung (Recovery)
Die radioaktive Wiederfindung ermöglichte die Korrektur des analytischen Verlustes bei der Extraktion und der Auftrennung durch Säulenchromatographie. Jede Plasmprobe wurde mit 500 cpm Testosteron (1,2-^{3}H) und 500 cpm Dihydrotestosteron (1,2-^{3}H) in 50 ul Äthanol versetzt.
Nach der säulenchromatographischen Auftrennung wurde die radioaktive Wiederfindung gemessen. Die analytischen Verluste ließen sich so für die einzelnen Steroide in den analysierten

Plasmaproben bestimmen und die Ergebnisse der Hormonbestimmung korrigieren.

Die radioaktive Wiederfindung wurde in Prozent der zu Beginn eingegebenen Radioaktivität angegeben. Eine radioaktive Wiederfindung von x% bedeutete also, daß das Ergebnis der Hormonbestimmung mit dem Faktor $\frac{100}{x\%}$ multipliziert werden mußte. (siehe 3.3.4.).

Die Tabelle 3 zeigt die durchschnittliche radioaktive Wiederfindung für Testosteron und DHT.

Tabelle 3

Hormon	Testosteron (in %)	DHT (in %)
Anzahl d. Proben	35	37
$\bar{x}$	62,5	56,3
s_x	11	10,9
$s_{\bar{x}}$	1,8	1,8
V	17,6	19,3

4.1.2. Standardkurven

Die Standardkurven für die radioimmunologisch bestimmten Steroidhormone Testosteron und 5α-Dihydrotestosteron wurden in den folgenden Abbildungen in drei verschiedenen Weisen dargestellt.

4.1.2.1. B/T:
Die prozentuale Bindung des radioaktiv markierten Steroids B/T x 100 wird auf der Ordinate gegen die bekannte Standardmenge des jeweiligen Hormons auf der Abszisse aufgetragen. (B = gebundenes markiertes Hormon in cpm, T = Gesamtmenge der eingegebenen Radioaktivität in cpm) (Abb.3 und 6).

4.1.2.2. B/B_0:
Auf der Abszisse werden die bekannten Standardmengen eines jeden Hormons aufgetragen, auf der Ordinate die jeder Standardmenge zugehörige prozentuale Bindung als $B/B_0 \times 100$ (B = gebundenes markiertes Hormon in cpm, B_0 = gebundenes markiertes Hormon bei der Standardhormonmenge von 0 pg in cpm) (Abb.4 und 7).

4.1.2.3. Die Werte $B/B_0 \times 100$ werden in einer logit-Transformation gegen den Logarithmus der Standardhormonmengen aufgetragen. (Abb.5 und 8). Diese Darstellung führt zu einer Linearität der Standardkurve zwischen 10 und 1000 pg für Testosteron und zwischen 5 pg und 500 pg für DHT. Der Vorteil dieser linearen Darstellung liegt in der genaueren Ablesbarkeit der Werte. Die Standardkurven in den Abbildungen 3,4,6,7 zeigen bis 200 pg einen steilen exponentiellen Abfall, dem sich ein weniger steiler Kurvenbereich anschließt. Im Bereich des steilen Abfalles lassen sich die bestimmten Hormonmengen genauer angeben als im flachen Kurventeil, da es bei einer Abweichung der Variablen y um Δy im steilen Kurvenbereich zu einer geringeren Änderung der Variablen x kommt als im flachen Kurvenbereich.

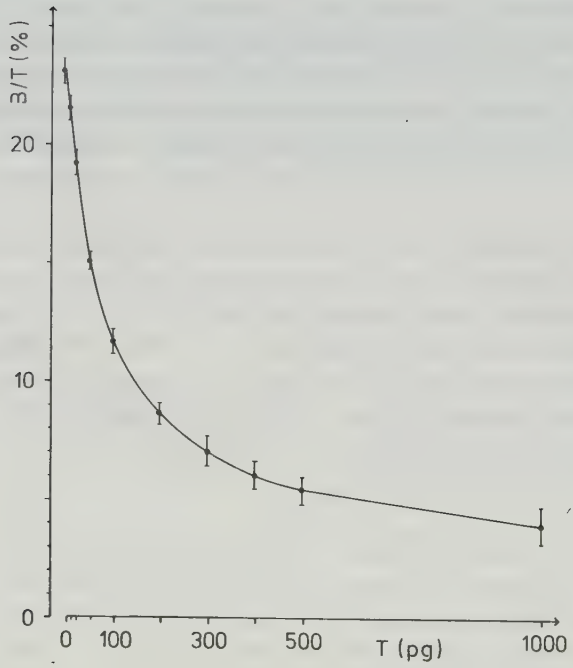


Abb.3: Standardkurve für Testosteron (Ordinate: B/T · 100 als prozentuale Bindung des radioaktiv markierten Steroids; Abszisse: Standardmengen von Testosteron in pg). Jeder Punkt der Kurve stellt $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ aus n = 4 Einzelmessungen dar.

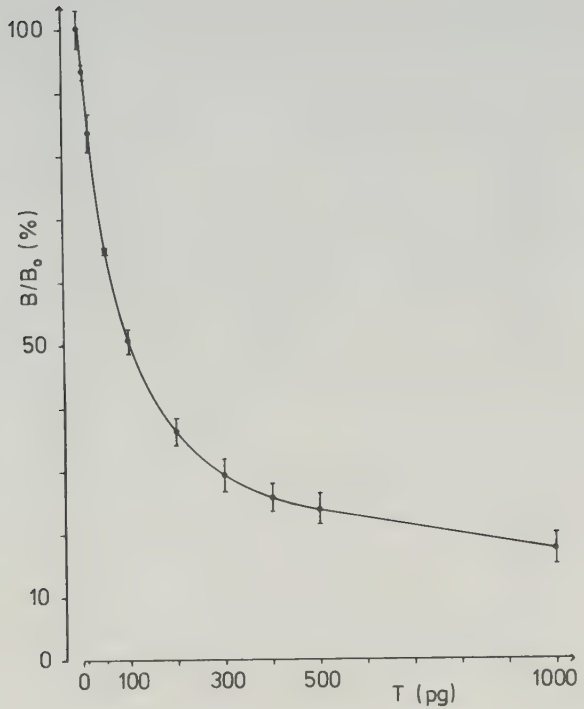


Abb.4: Standardkurve für Testosteron (Ordinate: $B/B_0 \cdot 100$; Abszisse: Standardmengen von Testosteron in pg). Jeder Punkt der Kurve stellt $x \pm s_x$ aus n = 4 Einzelmessungen dar.

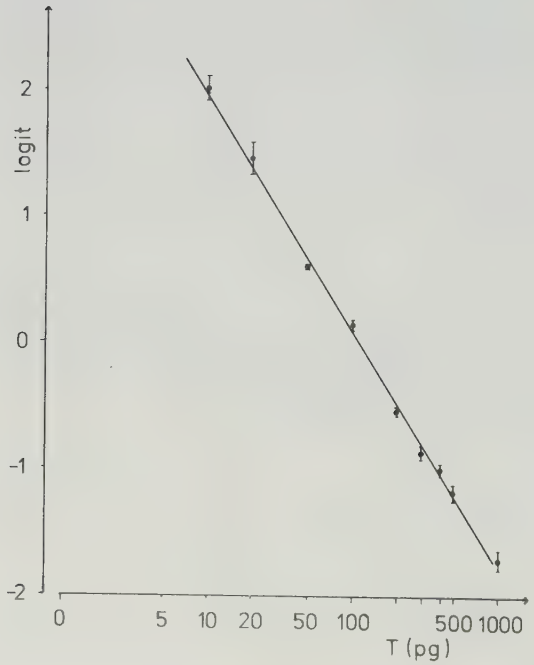


Abb.5: Standardkurve für Testosteron in logit-Transformation. Ordinate: B/B_0 auf logit-Skala. Abszisse: Testosteron-Hormonmenge auf logarithmischer Skala. Zu jedem Punkt, der sich aus vier Einzelnessungen ergab, wurde die Standardabweichung s_x der Stichprobe angegeben.

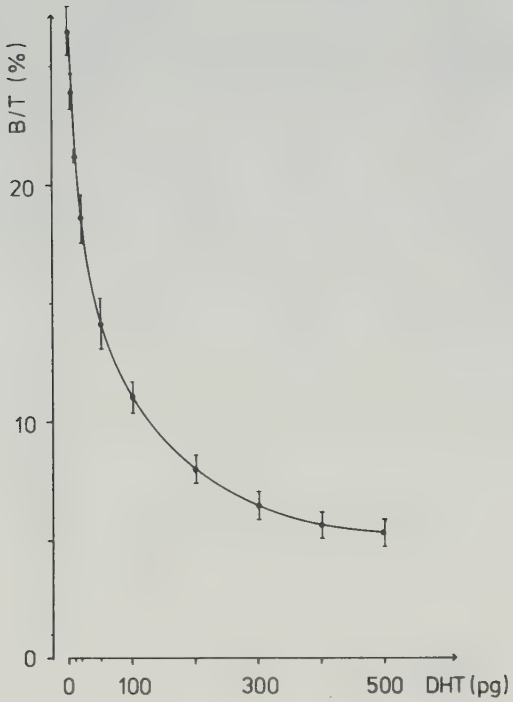


Abb.6: Standardkurve für 5α-Dihydrotestosteron. (Ordinate: B/T · 100 als prozentuale Bindung des radioaktiv markierten Steroids; Abszisse: Standardmengen von DHT in pg). Jeder Punkt der Kurve stellt $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ aus n = 4 Einzelmessungen dar.

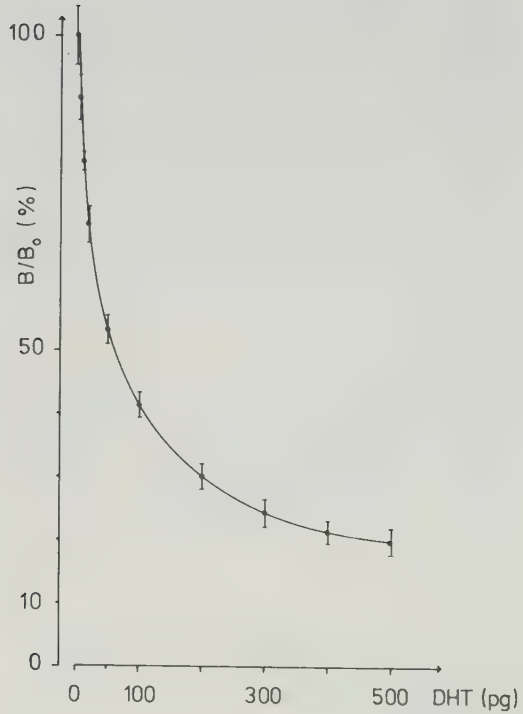


Abb.7: Standardkurve für 5α-Dihydrotestosteron (Ordinate: $B/B_o \cdot 100$; Abszisse: Standardmengen von DHT in pg). Jeder Punkt der Kurve stellt $x \pm s_{\bar{x}}$ aus n = 4 Einzelmessungen dar.

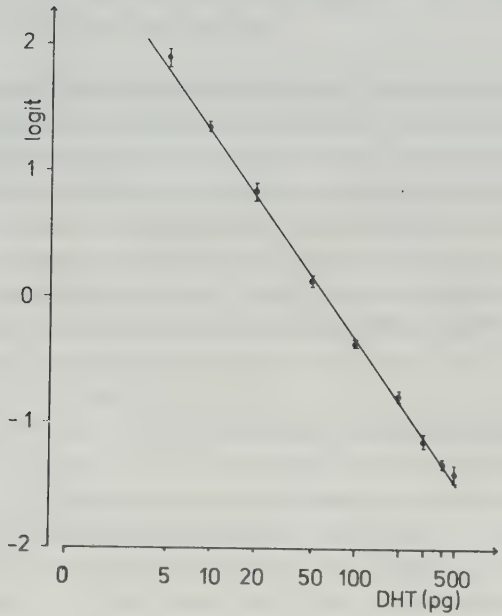


Abb.8: Standardkurve für 5 α -Dihydrotestosteron in logit-Transformation. Ordinate: B/B_0 auf logit-Skala. Abszisse: DHT-Hormonmenge auf logarithmischer Skala. Zu jedem Punkt, der sich aus 4 Einzelmessungen ergab, wurde die Standardabweichung s_x der Stichprobe angegeben.

4.1.3. Spezifität der Methode.
Die Spezifität einer analytischen Methode beschreibt ihre Fähigkeit,aus einem Spektrum verschiedener chemischer Substanzen durch eine charakteristische Reaktion nur eine bestimmte Substanz auszuwählen und zu erfassen.

4.1.3.1. Die Spezifität der radioimmunologischen Methode hängt in erster Linie von der Spezifität des Antiserums ab. Ein Maß für die Spezifität ist die relative Kreuzreaktion, sie ist definiert als das Verhältnis der Menge eines Steroids zu der Menge an Testosteron, die jeweils nötig ist, um in einer Lösung, die markiertes Testosteron und spezifisches Testosteron-Antiserum enthält, 50% des markierten Testosterons von den Bindungsstellen des Antikörpers zu verdrängen. Dieses Verhältnis wird in % angegeben.

$$C\% = \frac{\text{Testosteron (pg) bei 50\% Verdrängung}}{\text{Steroid x (pg) bei 50\% Verdrängung}} \times 100 \text{ (Pirke, 1973).}$$

Die relative Kreuzreaktion verschiedener Steroide mit dem Antiserum gegen Testosteron-3-oxim-Rinderserumalbumin wurde von Gupta et al. (1975) in Tübingen geprüft.

Tabelle 4

Relative Kreuzreaktion der Steroide mit dem Antiserum			
	Gupta et al. 1975	Pirke 1973	Nieschlag et al.1972
Testosteron	100 %	100 %	100 %
5α-DHT	86 %	71 %	100 %
Androstendion	2,8%	0,7%	0,3%
Dehydroepiandrosteron	8,4%	0,2%	0,002%
Androstandiol	16 %	7,6%	-
Androstendiol	14 %	0,7%	1,6%
Epitestosteron	0,1%	0,2%	0,1%
Östron	0 %	0,2%	0,001%

In der Tabelle 4 sind die von Gupta et al. gewonnenen Ergebnisse im Vergleich zu anderen in der Literatur gefundenen Werten dargestellt. Das Ausmaß der immunologischen Kreuzreaktion mit anderen Steroiden gibt Auskunft über die Spezifität des Antiserums.

Die besonders starke Kreuzreaktion des Testosteron-Antiserums mit DHT machte die chromatographische Abtrennung vom Testosteron notwendig (siehe 3.2.), ermöglichte aber andererseits seine radioimmunologische Bestimmung mit demselben Antiserum. Weitere auffallend hohe Kreuzreaktionen fanden sich bei Androstendiol und Androstandiol, Vorstufen in der Biosynthese von Testosteron bzw. Metabolit der peripheren Testosteroninterkonversion und ebenso - wie 5α-Dihydrotestosteron - Steroide mit einer 17β-Hydroxylgruppe. Bei der säulenchromatigraphischen Auftrennung werden sie nach der Testosteron-Fraktion eluiert und können bei der eigentlichen radioimmunologischen Bestimmung nicht mit dem Testosteron interferieren. Dehydroepiandrosteron zeigt nach der Bestimmung von Gupta et al. eine Kreuzreaktion von 8,4 %. Bei der säulenchromatographischen Auftrennung wird es zwischen den Fraktionen des 5α-Dihydrotestosterons und des Testosterons eluiert (Carr et al., 1971), eine Überlappung, insbesondere mit der Testosteronfraktion, lässt sich nicht immer mit Sicherheit vermeiden. Bei einer hohen Kreuzreaktion könnten die Testosteronwerte dadurch beeinflusst werden, zumal die Dehydroepiandrosteronkonzentration im Plasma in der Größenordnung der Testosteronkonzentration gleichkommt (Boon et al., 1972). Dieser Tatsache wurde bei der säulenchromatographischen Auftrennung der Steroide Rechnung getragen, indem die Bereiche der einzelnen Fraktionen scharf definiert und durch konstante Laufgeschwindigkeit des Laufmittels auch möglichst eingehalten wurden.

Androstendion, ein "Proandrogen" mit einer Kreuzreaktion von 2,8 % läuft bei der chromatographischen Auftrennung in der Fraktion des DHT (Carr et al., 1971), im Plasma weist es relativ hohe Konzentrationen auf, so daß es bei der radioimmunologischen Bestimmung von DHT zu einer Verfälschung der Werte um diesen Prozentsatz kommt.

Die in der Literatur beschriebenen Antiseren gegen Testosteron-3-oxim-Rinderserumalbumin differieren, insbesondere im Hinblick auf ihre Spezifität. Dies erklärt die in der Tabelle aufgeführten Unterschiede der relativen Kreuzreaktion mit anderen Steroiden (Pirke, 1973; Nieschlag, 1972).

4.1.3.2. Abgesehen von der relativen Kreuzreaktion mit anderen Steroiden können unspezifische Faktoren, die im weitesten Sinne die Reaktionskinetik der Antigen-Antikörper-Reaktion beeinflussen, die Spezifität der radioimmunologischen Bestimmung herabsetzen. Als solche Faktoren gelten die Wasserstoffionenkonzentration, die Temperatur, die Konzentrationen von Antiseren, radioaktiven-und Elektrolytlösungen (Ekins et al., 1970). Diese unspezifischen Faktoren wurden durch strenge Einhaltung der Arbeitsbedingungen auszuschalten versucht. Auf konstante Temperatur und gleichbleibende Konzentration der verwendeten Lösungen wurde besonders geachtet.

4.1.4. Leerwerte

Der Leerwert wurde als Wasserleerwert bestimmt. Er ergibt sich aus der Konzentration eines Hormons, die bei der radioimmunologischen Bestimmung in einer Probe von Wasser ge-

messen wird, die derselben analytischen Methode wie die Plasmaproben unterzogen wurde. Die Höhe des Leerwertes hängt insbesondere von der zur Auftrennung des Plasmas verwendeten chromatographischen Methode und von der Art und der Zusammensetzung des zur Eluation verwendeten Laufmittels ab (Murphy 1970; Vermeulen et al., 1970).

So können Lauf- bzw. Lösungsmittelrückstände zu einer Störung der hochempfindlichen Antigen-Antikörper-Reaktion führen, die eine falsche Bestimmung der Androgenkonzentration im Plasma bewirkt. Auch die Verwendung von Reagenzröhrchen oder Pipetten aus Plastik führt zu falschen, zu hohen Werten der bestimmten Hormone.

Durch die Verwendung der Säulenchromatographie mit Sephadex LH-20 konnten die verfälschenden Einflüsse von Rückständen aus dem zur chromatographischen Auftrennung verwendeten Material eliminiert werden, da Sephadex LH-20 sich gegenüber Steroiden chemisch inert verhält (Murphy, 1970; Carr, 1971). Die verbleibeden niedrigen, durch Lösungsmittel bedingten Leerwerte mußten in Kauf genommen werden, wurden aber durch Verwendung von Glaswaren, Einmalpipettenspitzen und frisch gelieferten Lösungsmitteln, die nicht dem Sonnenlicht ausgesetzt wurden, möglichst niedrig gehalten. Bei niedrigen Androgenkonzentrationen im Plasma, wie sie bei praepubertären Kindern gefunden werden, haben die unspezifischen Leerwerte gravierenden Einfluss auf Empfindlichkeit und Genauigkeit der Methode. Die radioimmunologisch bestimmten Androgenkonzentrationen wurden durch Subtraktion des Leerwertes korrigiert. Dazu wurde der aus der Standardkurve abgelesene Betrag für den Leerwert von den jeweiligen, sich für die Plasmaproben ergebenden Werte vor der Berechnung der Proben subtrahiert (siehe 3.3.4.).

Andere Autoren verfuhren ebenso (Frasier, 1969; Pirke, 1973; Vermeulen, 1970).

Tabelle 5
Wasserleerwerte in pg je Probe

	Testosteron	DHT
$\bar{x}$	4.16	6.66
s_x	6.7	2.5
$s_{\bar{x}}$	2.73	1.02
n	6	6

4.1.5. Präzision der Methode
Unter Präzision versteht man die Reproduzierbarkeit von Meßwerten (Ekins, 1970). Sie wird angegeben durch die Standardabweichung der Stichproben. Da die Standardabweichung von der Größe des Mittelwertes abhängt, ist es günstiger, die relative Standardabweichung (Variationskoeffizient) anzugeben, die eine vergleichbare Aussage erlaubt.

4.1.5.1. Präzision der Standardkurven
Die Standardabweichungen für die einzelnen Punkte des Standardkurve wurden in die Diagramme eingetragen (siehe Abb.3-8). Die berechneten Variationskoeffizienten schwankten von 4,25 % bei 0 pg und 32,5 % bei 1000 pg für Testosteron und von 7,7 % bei 0 pg und 22.5 % bei 500 pg für DHT.

Die Einzelwerte für die Variationskoeffizienten sind für die verschiedenen Hormonmengen in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6

Hormonmenge in pg	0	5	10	20	50	100	200	300	400	500	1000
Testosteron (%)	4,26	-	4,23	6,25	2,6	8,6	11,2	17,5	18,8	22,9	32,5
DHT (%)	7,7	5,4	2,3	10,6	12,3	12,0	14,8	17,3	19,5	22,5	-

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist der Variationskoeffizient im steilen Kurvenbereich bis 200 pg annähernd gleichbleibend, steigt dann aber bei größeren Hormonmengen zunehmend an, insbesondere bei Testosteron. Diese Verschlechterung des Variationskoeffizienten wirkte sich aber nur auf die wenigen Werte aus, die in dem Bereich des flachen Kurventeils zur Ablesung kamen.

4.1.5.2. Präzision bei der Bestimmung der Plasmaproben
Die Reprodzierbarkeit der einzelnen Meßwerte mit der radioimmunologischen Methode in einem Ansatz wurde durch die mehrfache Bestimmung einer Plasmaprobe aus einem Plasmapool geprüft. Die Werte sind in der Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7

Streuung innerhalb einer Serie vom Plasmapool

n = 4	in ng/100 ml				$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	V %
Testosteron	375,0	320,5	290,0	325,4	327,7	35,2	17,6	10,7
DHT	25,4	29,0	24,0	27,5	26,4	2,21	1,1	8,37

Zur Ermittlung der Streuung der einzelnen Meßwerte von Tag zu Tag wurde in verschiedenen radioimmunologischen Ansätzen zusätzlich ein Patientenserum mitgeführt. Die ermittelten Werte sind in der Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8

Streuung von Tag zu Tag, Wiederholungsgenauigkeit.

n = 3	in ng/100 ml			$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	V %
Testosteron	9,5	11,2	13,5	11,4	2,01	1,16	17,6
DHT	2,5	3,2	2,6	2,8	0,55	0,32	23,9

Die großen Variationskoeffizienten in Tabelle 8 sind zurückzuführen auf die geringen Androgenkonzentrationen in dem Patientenserum, das zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit der Meßwerte von Tag zu Tag mitgeführt wurde. Zum andern zeigt sich, daß bei einer Untersuchung einer Probe an verschiedenen Tagen die Analysenergebnisse stärker streuen als bei Mehrfachbestimmungen innerhalb der gleichen Serie. Dies ist darauf zurückzuführen, daß eine Reihe von Bedingungen, die einen Einfluß auf das Analysenergebnis haben, sich von Tag zu Tag ändern können (z.B. unterschiedliche Raumtemperatur, neu angesetzte Reagentien, Wechsel von Pipetten oder Meßgeräten) (Rick, 1973).

4.1.5.3. Richtigkeitskontrolle

Um systematische Fehler, vor allem unreine Reagentien, falsches Einwägen der zu analysierenden Substanz für eine Standardlösung zu erkennen, wurde bei jedem Ansatz zur radioimmunolo-

gischen Bestimmung eine Probe von 500 pg Testosteron bzw. DHT in 2 ml 0,1%er Gamma-Globulinlösung als Kontrollprobe mitgeführt. 500 pg Testosteron bzw. DHT in 2 ml Lösung entsprechen 25 ng/100 ml. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9

Richtigkeitskontrolle: Eingabe 25 ng/100 ml T bzw. DHT							
n = 3	ng/100 ml			$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	V in %
Testosteron	22,4	21,2	26,9	23,5	3,0	1,73	12,8
DHT	23,5	27,9	23,8	25,1	2,35	1,36	9,36

4.1.6. Empfindlichkeit der radioimmunologischen Methode.
In der Literatur finden sich im wesentlichen zwei Definitionen der Empfindlichkeit radioimmunologischer Bestimmungen. Die eine Definition beschreibt die Empfindlichkeit als untere Nachweisgrenze für kleine Hormonmengen, die andere als Empfindlichkeit der Standardkurve.

4.1.6.1. Bestimmung der unteren Nachweisgrenze
Die Fähigkeit einer Methode, kleine Hormonmengen mit ausreichender Genauigkeit zu erfassen, ist durch die untere Nachweisgrenze für kleine Hormonmengen charakterisiert. Sie wird angegeben als die kleinste Hormonmenge, die sicher von 0 unterschieden werden kann.
a) Ein Maß für die Empfindlichkeit in dieser Definition ist gegeben durch die Variabilität der prozentualen Bindung bei

einer Standardhormonmenge von 0 pg. In diesem speziellen Fall ist die Empfindlichkeit identisch mit der Präzision der Methode und lässt sich mathematisch exakt charakterisieren (Ekins et al., 1970).

Die prozentuale Bindung ($\bar{x} - 3s_x$), bzw. die ihr äquivalente aus der Standardkurve abgelesene Hormonmenge, die sich ergibt, wenn man von dem arithmetischen Mittelwert der prozentualen Bindung bei 0 pg drei Standardabweichungen subtrahiert, ist die kleinste Hormonmenge, die sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 % signifikant von 0 unterscheidet.

In der Tabelle 10 sind die unteren Nachweisgrenzen für die bestimmten Hormone Testosteron und DHT zusammengestellt.

Tabelle 10

n = 4	Prozentuale Bindung $\bar{x}$ bei 0 pg in %	s_x	$(\bar{x} - 3\,s_x)\%$	Untere Nachweisgrenze
Testosteron in pg	23,0	1,28	19,16	20 pg
DHT in pg	26,5	2,04	20,41	12,5 pg

b) Sind die Plasmaandrogenkonzentrationen sehr klein, wie dies bei praepubertären Kindern der Fall ist, so kann der unspezifische Leerwert zum bestimmenden Faktor der Empfindlichkeit, in diesem Fall also der unteren Nachweisgrenze werden. (Frasier, 1969).

In diesem Fall ist die Variabilität des Leerwertes ein Maß für die Empfindlichkeit. Nach einer Empfehlung von Kaiser (1965) wird die Nachweisgrenze dann als Summe von 3 Standardabweichungen des gemittelten Leerwertes angegeben.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 zusammengestellt (siehe auch 4.1.4.).

Tabelle 11

n = 6	Leerwert			Untere Nachweisgrenze (pg)
	$\bar{x}$ (pg)	s_x	$3s_x$	
Testosteron	4,16	6,7	20,1	20,1
DHT	6,66	2,5	7,5	7,5

Aus dem Vergleich der Tabellen 10 und 11 wird deutlich, daß der unspezifische Wasserleerwert nicht zum limitierenden Faktor der unteren Nachweisgrenze wurde.

4.1.6.2. Empfindlichkeit der Standardkurve

Die Empfindlichkeit der Standardkurve ist bestimmt durch die Charakteristik ihres exponentiellen Abfalles, d.h. durch die starke Abnahme der prozentualen Bindung des radioaktiv markierten Steroids mit zunehmender Standardhormonmenge bis zu dem Punkt, wo die Kurve weniger steil wird.

In dem flachen Kurvenbereich, der nur noch eine geringe negative Steigung aufweist, führen größer werdende Standardhormonmengen nur noch zu einer geringen Änderung der prozentualen Bindung. Umgekehrt lässt sich schon bei geringer Streuung der prozentualen Bindung um den Mittelwert ein großer Irrtum bei der Angabe des zugehörigen Hormonwertes nicht ausschließen.

Ekins et al. (1970) empfehlen nur die unter 4.1.6.1. gegebene Definition von Empfindlichkeit zu verwenden, da diese den Vorteil der Vergleichbarkeit mit anderen Methoden besitzt (Albano et al., 1969) und nicht von der gewählten Darstellung der Standardkurve abhängig ist.

4.2. Ergebnisse der Hormonbestimmung und der klinischen Untersuchung

4.2.1. Ergebnisse der Hormonbestimmung im Patientenplasma.

Die basalen Testosteronwerte zeigten Schwankungen zwischen 1,4 und 20,7 ng/100 ml Plasma. Nach HCG-Verabreichung (3 x 1500 IU in 2-tägigem Abstand i.m.) stieg bei allen Patienten der Testosteronspiegel an auf Werte zwischen 117,6 und 484 ng/100 ml (siehe Abb.9).

Die Werte für Dihydrotestosteron lagen vor HCG-Verabreichung zwischen 0 und 21,7 ng/100 ml und stiegen nach HCG auf Werte zwischen 8,3 und 86,7 ng/100 ml an (siehe Abb.10).

Der Basalwert für FSH lag zwischen 5 und 55 ng/ml bei den verschiedenen Patienten und stieg nach LH-RH-Verabreichung auf Maximalwerte zwischen 102,5 und 180 ng/ml. Die LH-Werte lagen vor Stimulation mit LH-RH zwischen 9 und 40,8 ng/ml. Nach LH-RH-Gabe lagen die Maximalwerte zwischen 30 und 76 ng/ml.

Tabelle 12 zeigt eine Synopsis der Plasmakonzentrationen von Testosteron und DHT vor und nach HCG und den Plasmakonzentrationen der Gonadotropine LH und FSH unter Basalbedingungen und maximaler Stimulation.

Tabelle 12

Patient	Alter	Testosteron ng/100 ml vor HCG	Testosteron ng/100 ml nach HCG	DHT ng/100 ml vor HCG	DHT ng/100 ml nach HCG	FSH ng/100 ml Bas. wert	FSH ng/100 ml Max. wert	LH ng/ml Bas. wert	LH ng/ml Max. wert
SC	4 1/12	16,4	132,9	21,7	86,7	30	102,5	20	50
KO	4 8/12	10,4	288,2	1,2	33,1	25	180	10,5	43,5
LM	5 5/12	1,4	300,7	0,0	21,1	25	155	12,5	61,0
OG	6 3/12	2,8	117,6	0,6	8,3	5	135	15	30
MC	6 4/12	13,5	484,5	2,6	29,0	30	148	8,8	38,5
KM	6 9/12	8,5	362,2	5,5	24,1	35	127,5	13,5	43,5
FJ	7 2/12	12,4	264,4	3,6	17,4	15	115	12	63,5
MS	8 3/12	14,3	-	5,7	-	30	130	11,5	37,5
KK	9 10/12	20,7	473,4	2,6	65,2	55	147,5	12,5	76,3

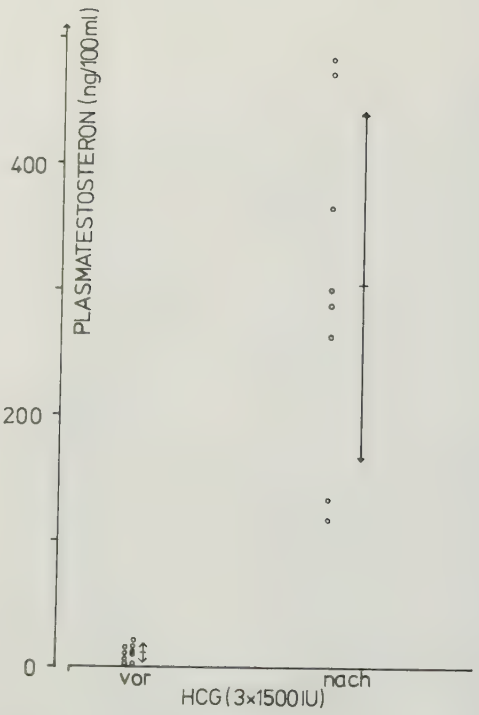


Abb.9 zeigt den Anstieg der Plasmatestosteronkonzentration nach HCG-Verabreichung. Eingetragen sind die Individualwerte, der Mittelwert und die Standardabweichung der Stichprobe.

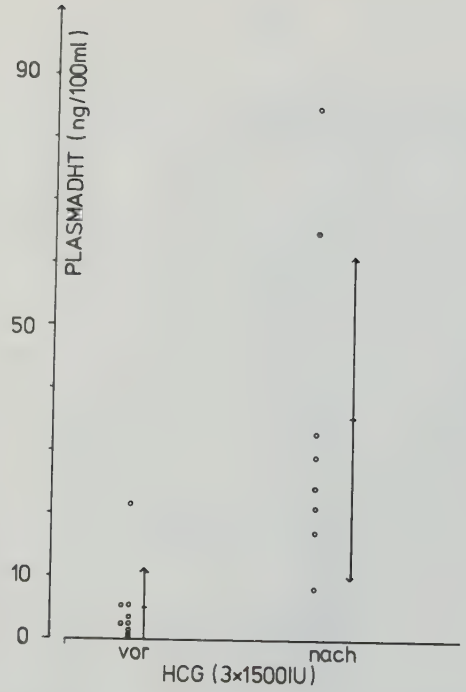


Abb.10: Graphische Darstellung des Anstiegs der DHT-Konzentration im Plasma nach HCG-Verabreichung. Eingetragen sind die Individualwerte, der Mittelwert und s_x.

Bei der in 4.1.6. beschriebenen Empfindlichkeit der radioimmunologischen Methode mit einer unteren Nachweisgrenze von 5 ng/100 ml für Testosteron und 3,1 ng/100 ml für 5α-Dihydrotestosteron sind bei den Patienten LM und OG die Basalwerte für Testosteron und bei den Patienten LM, OG, KO, MC und KK die Basalwerte für DHT nicht signifikant von 0 unterschieden. Die Gonadotropine LH und FSH lagen bei allen Patienten über der unteren Nachweisgrenze und waren somit meßbar.

Die individuellen Einzelwerte z.Z. t = 0, 10, 20, 30, 60 min sind in Tabelle 13 zusammengestellt. Die Maximalwerte sind hervorgehoben.

Tabelle 13

	FSH (ng/ml)					LH (ng/ml)					
Pat.	o'	10'	20'	30'	60'	0'	10'	20'	30'	60'	
SC	30	37,5	65	102,5	0	20	26,5	46,5	50	40	
KO	25	102,5	110	180	130	10,5	40,0	46,5	43,5	20	
LM	25	42,5	90	107,5	155	12,5	53,8	61,0	53,8	47,5	
OG	5	48,5	75	80	135	15	21,3	30	27,5	27,5	
MC	30	45	120	127,5	147,5	8,8	20,0	38,7	38,5	33,8	
KM	35	57,5	75	87,5	127,5	13,5	42,5	36,3	35,0	25,0	
FJ	15	50	75	92,5	115	12	26,8	30	35,0	63,5	
MS	30	87,5	95	122,5	130	11,5	37,5	32,5	23,8	17,5	
KK	55	60	77,5	72,5	147,5	12,5	32,5	55	50	76,3	

Die mittlere Plasmakonzentration der Gonadotropine war für FSH zur Zeit t = 0 27,8 $\pm$ 13,7 (s_x) ng/ml für den Maximalwert 138 $\pm$ 23,2 (s_x) ng/ml. Bei LH waren die entsprechenden Werte 12,9 $\pm$ 3,2 (s_x) ng/ml und 49 $\pm$ 14,8 (s_x) ng/ml.

Die Maximalwerte für FSH nach LH-RH-Test wurden bei den Patienten SC und KO z.Z. t = 30 min gemessen. Bei den übrigen Patienten z.Z. t = 60 min.
Im Vergleich dazu erreichten die LH-Plasmakonzentrationen überwiegend früher ihren Maximalwert. Bei 2 Patienten (KM, MS) stellte sich die maximale Plasmakonzentration schon 10 min nach LH-RH-Stimulation ein, bei den Patienten KO, LM, OG und MC z.Zt. t = 20 min, bei Patient SC z.Z. t = 30 min, nur bei 2 Patienten (FJ, KK) wurden die Maximkalwerte nach 60 min bestimmt (siehe Abb.11 und 12). Bei den FSH-Plasmakonzentrationen findet sich ein Anstieg um mindestens den Faktor 2,7; bei den LH-Plasmakonzentrationen mindestens um den Faktor 2,0.
In Tabelle 14 sind diese Faktoren für die relativen Veränderungen des LH und FSH angegeben. Sie charakterisieren die Form des Anstieges auf das Vielfache des Ausgangswertes. Zusätzlich ist der Quotient FSH basal/ LH basal eingetragen, der die Relation der beiden Gonadotropine im Plasma zueinander zeigt.

Tabelle 14

Patienten	SC	KO	LM	OG	MC	KM	FJ	MS	KK
$\frac{\text{LH max}}{\text{LH basal}}$	2,5	4,4	4,9	2,0	4,4	3,1	5,3	3,3	6,1
$\frac{\text{FSH max}}{\text{FSH basal}}$	3,4	7,2	6,2	27	4,9	3,6	7,7	4,3	2,7
$\frac{\text{FSH basal}}{\text{LH basal}}$	1,5	2,3	2,0	0,33	3,4	2,5	1,25	2,6	4,4

In Abb.13 ist das Ausmaß des Testosteronanstieges nach HCG-Verabreichung gegen den Quotienten FSH basal/LH basal aufgetragen. Zum Vergleich wurde in Abb.14 der Testosteronanstieg gegen das chronologische Alter aufgetragen.

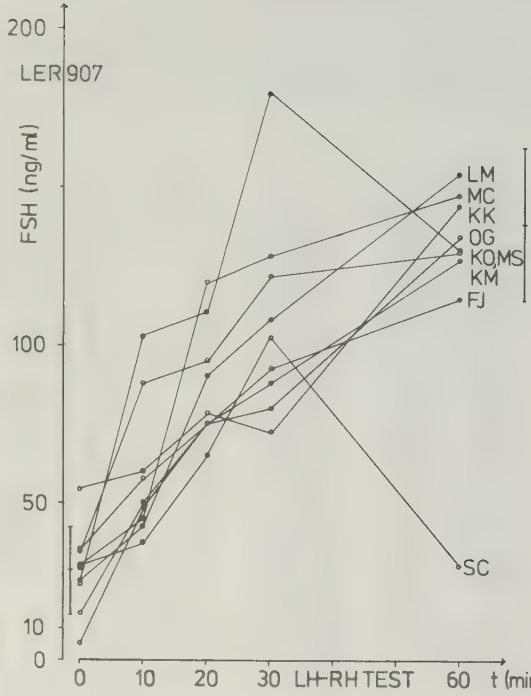


Abb.11: Verhalten der FSH-Plasmakonzentration bei den einzelnen Patienten im LH-RH-Test (50 ug/m^2). Angegeben sind auch Mittelwert und Standardabweichung s_x des Basal- und Maximalwertes.

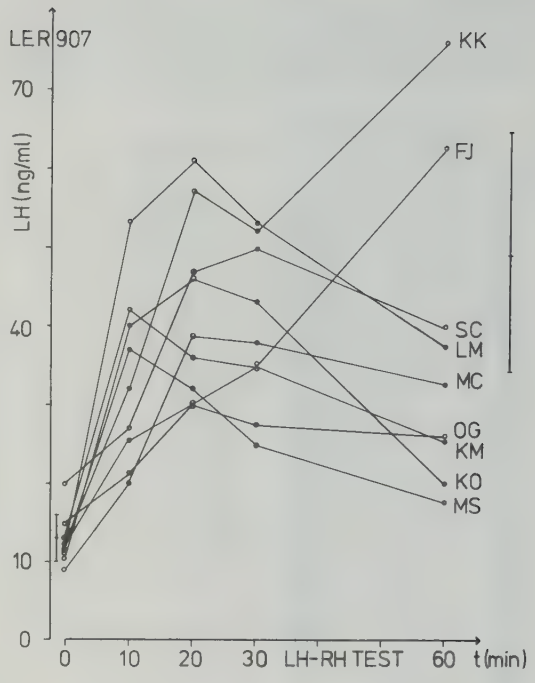


Abb.12: Verhalten der LH-Plasmakonzentration bei den einzelnen Patienten im LH-RH-Test (50 ug/m^2). Angegeben sind auch Mittelwert und Standardabweichung s_x des Basal- und Maximalwertes.

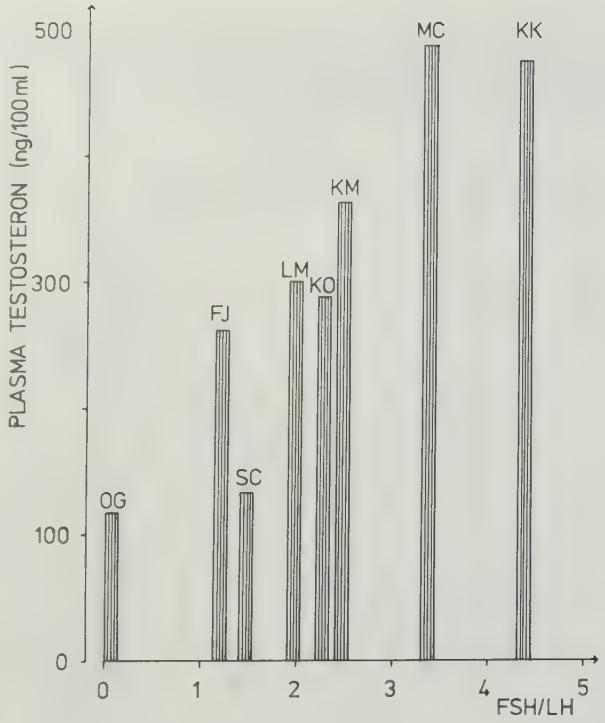


Abb.13: Ordinate: Plasma-Testosteron-Konzentration nach HCG in ng/100 ml. Abszisse: Quotient FSH/LH, gebildet aus den jeweiligen basalen Gonadotropin-Konzentrationen.

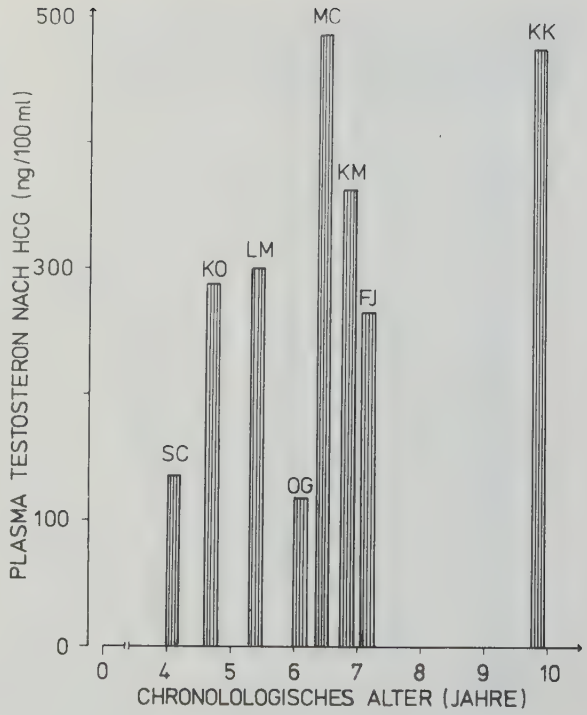


Abb.14: Ordinate: Plasma-Testosteron-nach HCG in ng/100 ml bei den jeweiligen Patienten. Abszisse: chronologisches Alter.

Die mittlere Plasmakonzentration von Testosteron vor HCG lag bei 11,2 ± 6,2 (s_x) ng/100 ml und stieg nach HCG-Verabreichung auf 303 ± 137 (s_x) ng/100 ml. Auch für DHT ergab sich ein Anstieg, von 4,8 ± 6,6 (s_x) ng/100 ml auf 35,6 ± 26,6 (s_x) ng/100 ml (siehe auch Abb.9 und 10).

Die Relation der Plasmaandrogenkonzentration nach HCG-Stimulation zur normalen Androgenkonzentration im Plasma erwachsener männlicher Personen schwankte für Testosteron zwischen 0,22 (Patient SC, 4 1/12 Jahre) und 0,8 (Patient MC, 6 4/12 Jahre) und zwischen 0,13 (Patient OG, 6 3/12 Jahre) und 1,4 (Patient SC, 4 1/12 Jahre) für 5 α -Dihydrotestosteron. Dabei wurde für erwachsene Männer von einer Normalkonzentration von 600 ng/100 ml für Testosteron und von 60 ng/100 ml für DHT ausgegangen (Gupta et al., 1975).

Tabelle 15

Patienten	SC	KO	LM	OG	MC	KM	FJ	MS	KK
Testosteron	0,22	0,48	0,5	0,2	0,8	0,6	0,44	-	0,79
DHT	1,4	0,55	0,35	0,31	0,48	0,4	0,29	-	1,08

In Tabelle 15 sind die Relationen der Plasmaandrogenkonzentration nach HCG-Verabreichung zur Plasmaandrogenkonzentration normaler Erwachsener für die einzelnen Patienten angegeben.

Bei den Patienten LM, OG, MC war der Hoden unilateral deszendiert (siehe 4.2.2.1.). Bei diesen Jungen fand sich ein mittlerer Basalwert von 5,9 ± 6,6 (s_x) ng/100 ml für Testosteron, nach HCG-Stimulation lag die Plasmakonzentration bei 301 ± 183 (s_x) ng/100 ml. Die entsprechenden Werte für DHT waren 1,1 ± 1,4 (s_x) ng/100 ml und 19,5 ± 10,5 (s_x) ng/100 ml. Bei den Patienten KO, KM, FJ, MS und KK waren die Hoden bi-

lateral nicht deszendiert. Vor HCG-Gabe wurde bei diesen Jungen eine mittlere Plasmakonzentration von 13,3 ± 4,6 (s_x) ng/100 ml für Testosteron und von 3,7 ± 1,6 (s_x) ng/100 ml für DHT gemessen, danach von 347,0 ± 94 (s_x) ng/100 ml und von 35,0 ± 20,9 (s_x) ng/100 ml.

4.2.2. Ergebnisse der klinischen Untersuchung und der Anamnese

4.2.2.1. Klinische Untersuchung des Genitale.

Alle 9 Patienten befanden sich bei einer Klassifikation der Pubertätsstadien nach Tanner (1962), die sich an der Entwicklung des Genitale und der Schambehaarung orientiert, im Pubertätsstadium I. Bei allen Patienten war das Genitale praepubertär, Schambehaarung war nicht nachzuweisen.

Nur bei einem Patienten (SC) waren beide Testikel deszendiert und mit einem Volumen von 1 ml normalgroß. Bei drei Patienten waren die Testikel vor der therapeutischen und diagnostischen HCG-Gabe nur unilateral deszendiert, bei fünf Patienten bestand ein beidseitiger Hodenhochstand. Bei allen Patienten mit ein- oder beidseitigem Hodenhochstand war das Hodenvolumen unter 1 ml verkleinert. Bei dem Patienten KK waren vor der HCG-Verabreichung keine Hoden palpabel, bei den übrigen Patienten waren die Hoden in der Leiste tastbar. Bei dem Patienten MC war der rechte Hoden bis an den Annulus externus des Leistenkanals bei sofortiger Retraktion luxierbar (Gleithoden).
Tabelle 16 zeigt eine detaillierte Darstellung des klinischen Genitalbefundes der neun Patienten.

Tabelle 16

Patient	SC	KO	LM	OG	MC	KM	FJ	MS	KK
Hoden bilateral desz.	+								
Hoden unilat.desz.			+	+	+				
Hoden bilateral nicht deszendiert		+				+	+	+	+
Hodengröße in ml, links	1,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	-
Hodengröße in ml, rechts	1,0	0,1	0,2	0,3	0,1	0,5	0,3	0,3	-
Genitalbefund	pp	pp	pp	pp	pp	pp	pp	pp	pp

pp = praepubertär

4.2.2.2. Ergebnisse der Anamneseerhebung und der neurologischen Untersuchung.

Die nicht optimalen obstetrischen Bedingungen der einzelnen Patienten, die sich aus der Erhebung der Anamnese anhand eines Fragebogens in weitgehender Anlehnung an die Liste der optimalen obstetrischen Bedingungen ergaben, sind im Anhang zu diesem Abschnitt einzeln aufgeführt.

In der Anamnese fanden sich bei zwei Patienten (MK, MS) je 7, bei vier Patienten (OK, MC, FJ, KK) 11, bei 3 Patienten (CS, ML) 12 oder mehr nicht optimale Faktoren.

In der Abteilung für Entwicklungsstörungen der Univ-Kinderklinik Tübingen wurde kürzlich unter Herrn Professor Michaelis eine Perzentilenbeschreibung der nicht optimalen Faktoren erstellt, die es erlaubt, das einzelne Kind im Hinblick auf die Schwere seiner Risikobelastung zu beurteilen. In Anlehnung an Prechtl wird eine Einteilung in Risikogruppen getroffen (Tab.17). Kinder, die in den Bereich über der 90.Perzentile fallen, besitzen eine hohe Risikobelastung.

Tabelle 17

Perzentile	3	5	10	25	50	75	90	95	97
nicht optimale Faktoren	1	2	3	4	6	8	11	12	15
Risikogruppe	low risk			middle risk			high risk		

Nach Prechtl ergibt sich eine signifikante Korrelation der verschiedenen Optimalitätsgruppen mit der neonatalen Neurologie, der postnatalen Morbidität und der späteren Entwicklung. So werden Kinder mit einer hohen Risikobelastung in der Folgezeit signifikant häufiger neurologisch auffällig als Kinder mit weniger nicht-optimalen Faktoren in der Anamnese. Dabei können sich verschiedene neurologische Syndrome, u.a. auch eine Diplegia spactica entwickeln.

Dieser Einteilung zufolge müssen 7 der 9 untersuchten Patienten der Gruppe mit einer hohen Risikobelastung zugeordnet werden.

Ätiopathogenetisch muß für die Entstehung der spastischen Tetraparese bei drei Kindern eine Frühgeburtlichkeit in Kombination mit Atemnotsyndrom, bei 5 Kindern eine natale Asphyxie angeschuldigt werden. Bei einem Kind konnte in der Anamnese eine EPH-Gestose der Mutter in der Schwangerschaft nachgewiesen werden.

Dabei sind die ätiopathogenetischen Bedingungen, die letztlich retrospektiv für die Entstehung einer neurologischen Schädigung verantwortlich gemacht werden müssen, nach Prechtl nur der Schlußpunkt in einer Entwicklung, die sich aus einer Summierung - oft gegenseitig bedingender - nicht optimaler Faktoren ergab.

Tabelle 18 zeigt eine Zusammenfassung anamnestischer Daten.

Tabelle 18

	SC	KO	LM	OG	MC	KM	FJ	KK	MS
Natale Asphyxie			+	+			+	+	+
Hypotrophe Frühgeburt	+	+			+	+	+		
Atemnotsyndrom	+	+	+	+		+			
EPH-Gestose					+				

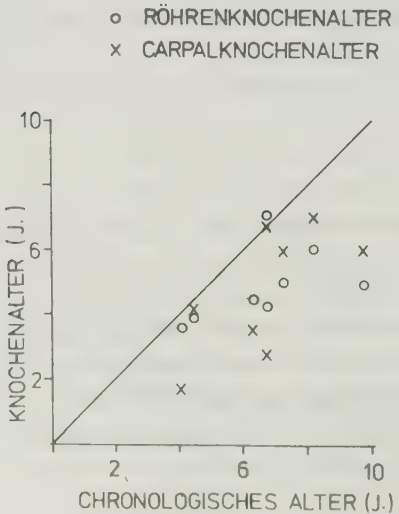
In Tabelle 19 sind die bei der letzten klinischen Untersuchung gefundenen neurologischen Daten zusammengestellt, zusätzlich wurde der EEG-Befund in der untersten Spalte dokumentiert. Dabei wurde jeweils auf den letzten vom betreffenden Patienten zur Verfügung stehenden EEG-Befund zurückgegriffen.

Tabelle 19

Neurologische Befunde, EEG

	SC	KO	LM	OG	MC	KM	FJ	MS	KK
Spast. Tetraparese	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Athetose	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+
Gute Kopfkontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)
Sitzen möglich	-	(+)	+	+	(+)	+	(+)	+	-
Gehen möglich	-	(+)	-	-	-	(+)	-	(+)	-
Adduktorenspasmus	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Feinmotorik der Hände gestört	+	-	+	+	+	-	+	+	+
Babinski-Reflex	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Strabismus divergens	+	-	-	-	-	-	+	-	-
EEG-Krampfaktivität	+	-	+	+	+	+	-	+	+

Abb.15 zeigt, daß bei sieben der untersuchten Patienten sowohl das Röhrenknochen- und das Carpalknochenalter retardiert waren. Die Daten wurden ebenfalls aus der Krankengeschichte übernommen.



A n h a n g

Nicht optimale obstetrische Bedingungen in Anlehnung an Prechtl in der Anamnese der einzelnen Patienten.

SC, 4 1/12 Jahre; 14 nicht optimale Faktoren.

Mütterliche Anamnese:
5 Schwangerschaften
mütterliches Alter bei der Geburt 40 Jahre.

Schwangerschaftsanamnese:
Blutung in mens 7.

Geburtsanamnese:
Zwillingsschwangerschaft, Austreibungsperiode 1 1/2 Stunden.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 28 Wochen, Geburtsgewicht 1 450 g, Einstellungsanomalie (Querlage); Apgar in der ersten min 6; Behandlung einer Azidose unmittelbar nach der Geburt mit Bicarbonat.

Postnatal Anamnese:
Atemnotsyndrom; rezidiverende Apnoeanfälle in den ersten Lebens tagen; ausgeprägte Trinkschwäche; Operation einer Hydrocele.

KO, 4 8/12 Jahre; 11 nicht optimale Faktoren.

Mütterliche Anamnese:
Während der Schwangerschaft berufstätig als Näherin.

Schwangerschaftsanamnese:
Blutung in mens 3.

Geburtsanamnese:
Eröffnungsperiode 5 1/2 Stunden; Austreibungsperiode 10 min.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 31 Wochen; Geburtsgewicht 1 660 g; Apgar in der 1 min 3, in der 5.min 5; medikamentöse Behandlung einer Azidose mit Bicarbonat.

Postnatale Anamnese:
Wechseldruckbeatmung nach Atemnotsyndrom; 1 x Apnoe; ausgeprägte Trinkschwäche.

LM, 5 5/12 Jahre; 14 nicht optimale Faktoren

Mütterliche Anamnese:
Während der Schwangerschaft berufstätig als Buchhalterin.

Schwangerschaftsanamnese:
Monosymptomatische Gestose (Hypertonie vor der Entbindung); chronisch rezidivierende Harnwegsinfekte, antibiotische Therapie.

Geburtsanamnese:
Sekundäre Wehenschwäche; Sectio caesarea; blutiges Fruchtwasser; Alteration der Herzfrequenz.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 42 Wochen; Geburtsgewicht 4 500 g; Apgar 2/2/2; Intubation, Sauerstoffbeatmung; medikamentöse Behandlung einer Azidose mit THAM.

Postnatal Anamnese:
Atemnotsyndrom; Krampfanfälle in der Neugeborenenperiode.

OG, 6 3/12 Jahre; 12 nicht optimale Faktoren

Mütterliche Anamnese:
Mütterliches Alter bei der Geburt 33 Jahre.

Geburtsanamnese:
Mekonium im Fruchtwasser.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 43 Wochen; Einstellungsanomalie (hintere Hinterhauptslage); postnatale Asphyxie; regelmässige Atmung erst nach 1 1/2-stündiger Mund-Zu-Mund-Beatmung; Abfall der Körpertemperatur.

Postnatale Anamnese:
Atemnotsyndrom; tonisch-klonisch rechtsbetonte Krampfanfälle; Hämatokrit 73; ausgeprägte Trinkschwäche; Aspirationspneumonie, Pneumothorax.

MC, 6 4/12 Jahre; 11 nicht optimale Faktoren

Mütterliche Anamnese:
Berufstätigkeit während der Schwangerschaft (Kindergärtnerin); mütterliches Alter bei der Geburt 36 Jahre.

Schwangerschaftsanamnese:
EPH-Gestose (RR 220/120, Esbach 7‰); Wurmkur im ersten Trimenon.

Geburtsanamnese:
Eröffnungsperiode kürzer als 6 Stunden; Narkose mit Epantol.

Kindliche Anamnese:
Geburtsgewicht 1 800 g.

Postnatale Anamnese:
Atemnotsyndrom, Inkubator und Sauerstofftherapie; tonisch-klonisch generalisierte Krämpfe, Opisthotonus; Hämatokrit 74%; Aspirationspneumonie rechts.

KM, 6 9/12 Jahre; 6 nicht optimale Faktoren

Mütterliche Anamnese:
Während der Schwangerschaft berufstätig in der Landwirtschaft.

Schwangerschaftsanamnese:
Sturz in der 34.Schwangerschaftswoche

Geburtsanamnese:
Dauer der gesamten Geburt nur 2 Stunden.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 34 Wochen; Geburtsgewicht 1 800 g.

Postnatale Anamnese:
Atemnotsyndrom.

FJ, 7 2/12 Jahre; 11 nicht optimale Faktoren

Mütterliche Anamnese:
Während der Schwangerschaft berufstätig als kaufmännische Angestellte.

Geburtsanamnese:
Eröffnungsperiode 5 Stunden; Austreibungsperiode 1 Stunde.

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 37 Wochen; Geburtsgewicht 1 850 g; Steißlage.

Postnatale Anamnese:
Schwere Hypoxie; am 2. und 3. Tag rezidivierende Apnoen; ausgeprägte Trinkschwäche, Ernährung per Dauersonde; Gesamtbilirubin über der Beobachtungszone; schwere Azidose bei Cholidyspepsie.

MS, 8 3/12 Jahre; 7 nicht optimale Faktoren
Mütterliche Anamnese:
Während der Schwangerschaft berufstätig in der Landwirtschaft.

Schwangerschaftsanamnese:
Blutung in der 34.Schwangerschaftswoche

Geburtsanamnese:
Sekundäre Wehenschwäche

Kindliche Anamnese:
Gestationsalter 38 Wochen; Einstellungsanomalie (Schädellage); postnatale Asphyxie.

Postnatale Anamnese:
Ausgeprägte Trinkschwäche.

KK, 9 10/12 Jahre; 11 nicht optimale Faktoren:

Mütterliche Anamnese:
5 Schwangerschaften; schlechte soziale Bedingungen; mütterliches Alter bei der Geburt 34 Jahre; frühere Fehlgeburt in mens 3.

Schwangerfchaftsanamnese:
Über Wochen anhaltende psychische Streßsituation.

Geburtsanamnese:
Sekundäre Wehenschwäche; Dauer der Eröffnungsperiode 4 Stunden.

Kindliche Anamnese:
Geburtsgewicht 4 750 g; Nabelschnurumschlingung; postnatale Asphyxie.

Postnatale Anamnese:
Kind war sehr zittrig (Blutzucker, Krampfanfälle).

5. Diskussion

Zu Beginn der Diskussion sollen die Ergebnisse noch einmal kurz zusammengestellt werden.

1. Bei den untersuchten Kindern handelt es sich um Patienten mit einer spastischen Tetraparese. Die retrospektiv erhobene Anamnese in Anlehnung an Prechtl belegt die hohe Risikobelastung der Kinder. Fünf Kinder waren bei der Geburt hypotrophe Frühgeborene, vier Kinder erlitten eine natale Asphyxie. Bei fünf der untersuchten Patienten entwickelte sich in der postnatalen Anamnese ein Atemnotsyndrom. Die entstandene Tetraspastik ist also mit großer Wahrscheinlichkeit auf ein hypoxämisches Ereignis während der Geburt zurückzuführen (siehe Tabelle 18).

2. Der Genitalbefund war bei allen Patienten praepubertär. Nur bei einem Patienten waren beide Hoden deszendiert und normal groß. Bei 3 Patienten waren die Hoden unilateral, bei 5 Patienten bilateral nicht deszendiert. Die Hodengröße war bei diesen Jungen deutlich kleiner als bei praepubertären gesunden Kindern (siehe Tabelle 16).

3. Die mittlere Plasmakonzentration von Testosteron vor HCG-Verabreichung lag bei 11,2 $\pm$ 6,2 (s_x) ng/100 ml und stieg nach HCG auf 303 $\pm$ 137 (s_x) ng/100 ml. Für DHT ergab sich ein Anstieg von 4,8 $\pm$ 6,6 (s_x) ng/100 ml auf 35,6 $\pm$ 26,6 (s_x) ng/100 ml (siehe Abb.9 und 10).

4. Die mittlere Plasmakonzentration der Gonadotropine war für FSH zur Zeit t = 0 27,8 $\pm$ 13,7 (s_x) ng/ml, für den Maximalwert 138 $\pm$ 23,2 (s_x) ng/ml. Bei LH waren die entsprechenden Werte 12,9 $\pm$ 3,2 (s_x) ng/ml und 49 $\pm$ 14,8 (s_x) ng/ml.

Die Maximalwerte für FSH nach LH-RH-Test wurden bei 2 Jungen nach 30 min, bei den übrigen nach 60 min bestimmt. Die LH-Plasmakonzentrationen erreichten ihren Maximalwert früher. Nur bei zwei Patienten stellte er sich nach 60 min ein (siehe Abb.11 und 12).

Im Vergleich zu den von anderen Autoren bestimmten Normalwerten für Kinder im Pubertätsstadium 1 nach Tanner (1962) waren die bei den untersuchten Patienten gefundenen Testosteronkonzentrationen im Plasma etwas erniedrigt oder lagen im unteren Normbereich. Besonders bei den Patienten KO, LM, OG und KM fanden sich niedrige basale Testosteronkonzentrationen. Auf die Schwierigkeit, solche Werte im Bereich der unteren Nachweisgrenze zu beurteilen, wurde von verschiedenen Autoren hingewiesen. (Boon, 1972; Rivarola, 1970). Eine Überlappung des normalen und pathologischen Bereichs bei präpubertären Kindern macht eine sichere Beurteilung unmöglich. Geringe Mengen Testosteron können bei praepubertären Kindern auch außerhalb der Gonaden aus Testosteron-Vorstufen synthetisiert werden, die aus den Testes oder der Nebennierenrinde stammen (Horton et al. 1967). So berichtet Rivarola über normale Testosteronspiegel bei Kindern mit Anorchie (Rivarola, 1970).

Für DHT liegen nur wenige Vergleichswerte von anderen Autoren vor (Gupta et al., 1972, 1975). Die bei den untersuchten Kindern bestimmten Werte stehen in guter Übereinstimmung mit den bei normalen praepubertären Kindern gefundenen Werten.

Tabelle 20 zeigt einen Vergleich der bestimmten Androgenkonzentrationen mit Normalwerten aus der Literatur von verschiedenen Autoren. Auffällig ist dabei die starke Streuung der Mittelwerte in meinen eigenen Bestimmungen. Diese wird durch einzelne Extremwerte hervorgerufen, die weder aus klinischen, noch aus methodischen Gründen als falsche Er-

gebnisse ausgeschlossen werden können und deshalb großen Anteil am Zustandekommen des Mittelwertes haben. So wurde z.B. durch die hohe DHT-Konzentration im Plasma des Patienten SC die mittlere basale DHT-Konzentration bei den Kindern von 2,7 auf 4,8 ng/100 ml angehoben. So können, bedingt durch die kleine Zahl der Patienten, durch die Angabe des Mittelwertes und der Standardabweichung der Stichproben falsche Eindrücke vermittelt werden. Auf diese Problematik wird auch von Boon (1972) hingewiesen. Er schloß deshalb Extremwerte von der Berechnung aus und vermied so aufgeblähte Standardabweichungen.

Tabelle 20

ng/100 ml	Eigene Bestimmung	Boon et al,1972	Frasier et al. 1969	Gupta et al. 1972	Gupta et al.+Raaf 1975	Saez et al. 1968	Winter et al. 1972
Methode	RIA[1]	DoI[2]	DoI	CPB[3]	RIA	DoI	CPB
Testosteron	11,2±6,2	25	39±5,3	25,3 ±8,5	23,0 ±3,9	31,8 ±10	18±4
DHT	4,8±6,6	-	-	3,5 ±3,2	7,3 ±1,9	-	-

[1]Radioimmunoassay
[2]Doppelisotopentechnik
[3]Competitive-protein-binding technique = Proteinverdrängungsmethode.

Saez et al. (1968) untersuchten bei normalen praepubertären Jungen die Stimulierbarkeit der Leydig-Zellen durch HCG-Verabreichung. Dabei fanden sie nach 15-tägiger HCG-Verabreichung von je 1500 IU i.m. im Abstand von 2 Tagen einen Anstieg der basalen Testosteronkonzentration von 31,8 ± 10 (s_x) ng/100 ml

auf 554 ± 121 (s_x) ng/100 ml, wobei die Spannweite der Testosteronwerte von 419 - 1069 ng/100 ml reichte. Frasier et al. (1969) fanden nach dreimaliger Gabe von je 5000 IE HCG i.m. in 2-tägigem Abstand einen geringeren Anstieg von 58 auf 377 ng/100 ml Testosteron. Job et al. (1974) und Winter et al. (1972) fanden bei normalen praepubertären Jungen nach dreimaliger Gabe von je 1500 IU HCG i.m. einen Anstieg der Testosteronkonzentration auf 346 ng/100 ml bzw. 173 ± 27 (s_x) ng/100 ml.

Weitere Untersuchungen von Job et al. (1974) über die Stimulierbarkeit der Leydig-Zellen bei Kindern mit unilateralem oder bilateralem Kryptorchismus zeigten einen signifikanten Unterschied im Anstieg der Testosteronwerte im Vergleich zu einem Kollektiv von praepubertären Kindern ohne Kryptorchismus. Bei den Kindern mit Kryptorchismus kam es zu einer Zunahme der Testosteronkonzentration auf 220 ± 25 (s_x) ng/100 ml, in der Vergleichsgruppe dagegen auf Werte von 346 ± 43 (s_x) ng/100 ml. Rivarola et al. (1970) konstatierten unterschiedliche Ansprechbarkeit der Leydig-Zellen auf HCG bei Kindern mit unilateralem und bilateralem Hodenhochstand. Bei den letzteren fand er nach HCG-Applikation einen geringeren Anstieg auf Werte von 329 ± 172 (s_x) ng/100 ml als bei den Kindern mit einseitigem Hodenhochstand mit Werten von 431 ± 96 (s_x) ng/100 ml.
Die Untersuchungsergebnisse der verschiedenen Autoren sind in Abb.16 graphisch dargestellt.

Der deutliche Anstieg der Androgenkonzentration im Plasma nach HCG-Verabreichung weist auf die Verfügbarkeit der zur Testosteronsynthese notwendigen Enzymsysteme, die offenbar auch in der unreifen Leydig-Zelle bei präpubertären Jungen rasch induziert werden können (Rivarola et al., 1970).

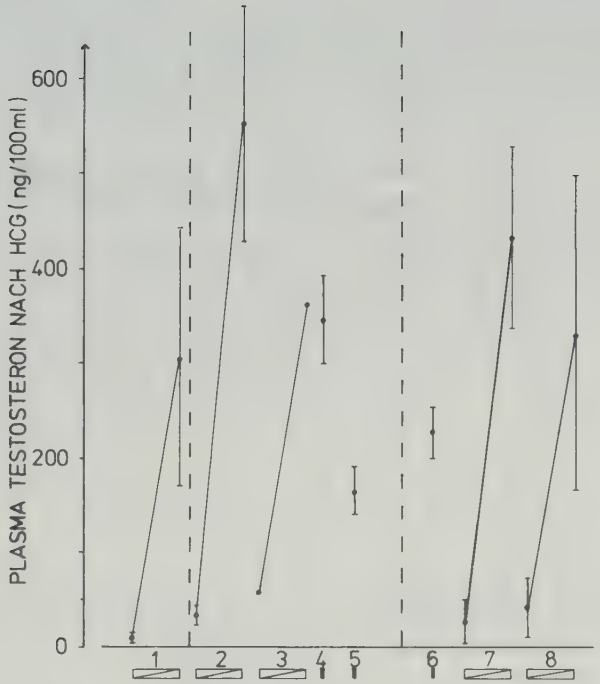


Abb.16: Anstieg der Plasma-Testosteronkonzentration nach HCG-Applikation bei präpubertären Kindern. Ganz links: Ergebnisse der eigenen Bestimmungen. Im Bereich zwischen den gestrichelten Linien: Normalwerte. Ganz rechts: Ergebnisse bei Kindern mit Hodenhochstand: 7: einseitiger, 8: beidseitiger HoHo. 1: eigene Bestimmung, 2: Saez et al, 3: Frasier et al., 4: Job et al., 5: Winter et al., 6: Job et al., 7,8: Rivarola et al.

Ein ausreichender Testosteronanstieg nach Stimulation mit HCG weist auch darauf hin, daß eine Schädigung der zur Testosteronbiosynthese notwendigen Enzymsysteme durch den Kryptorchismus noch nicht eingetreten ist (Llaurado et al., 1963). Ein Unterschied zwischen Kindern mit ein- oder beidseitigem Hodenhochstand ließ sich bei den von uns untersuchten Jungen nicht feststellen (siehe 4.2.1.).

Ebenso fand sich keine Abhängigkeit des Testosteronanstieges vom chronologischen Alter oder vom Knochenalter der Jungen. Auch eine Abhängigkeit vom Hodenvolumen war auszuschließen. Diese Ergebnisse stimmen mit Winter et al. (1972) überein, der bei Kindern im Pubertätsstadium 1 mit einer Hodenlänge unter 2,4 cm ebenfalls keine solche Abhängigkeit feststellen konnte. Die Stimulierbarkeit der Leydig-Zellen und das Ausmaß des Testosteronanstieges nach HCG ist dosisabhängig (Rivarola et al., 1970). Ein unmittelbarer Vergleich ist deshalb nur mit den Untersuchungen von Winter et al. (1972) und Job et al. (1974) möglich.

Auffällig ist die starke Reaktion der Leydig-Zellen auf die Stimulation mit HCG trotz des kleinen Hodenvolumens der untersuchten Patienten. Nur bei zwei Patienten (SC, OG) war der Anstieg weniger ausgeprägt, aber dennoch deutlich. Bei den anderen untersuchten Jungen stellte sich ein Testosteronspiegel von mindestens 260 ng/100 ml ein. Die gefundenen Werte liegen damit deutlich höher als die, die von Winter et al. (1972) bei Normalpatienten oder von Job et al. (1974) bei Kindern mit Kryptorchismus gefunden wurden.

1956 beschrieb Keye bei einem Patienten mit spastischer Paraplegie eine Atrophie der Hoden mit auffälliger Hyperplasie der Leydig-Zellen, deren Ätiopathogenese nicht eindeutig geklärt ist. Auch endokrinologische Konsequenzen dieses histologischen Befundes konnten nicht sicher abgeklärt werden.

Zu einer relativen Vermehrung der Leydig-Zellen kommt es auch in kryptorchen Hoden, die Zeichen einer Atrophie zeigen (Hedinger, 1974).

Zusammenhänge zwischen solchen Beobachtungen und den endokrinologischen Befunden bei den untersuchten Patienten sind unwahrscheinlich, zumal es in kryptorchen Hoden auf die Dauer zu einer Schädigung der zur Testosteronbiosynthese notwendigen Enzymsysteme kommen soll (Llaurado et al, 1963), sollten aber doch erwogen werden.

Die hohe basale Testosteronkonzentration bei dem Patienten KK, verbunden mit einem starken Anstieg des Testosterons im Leydig-Zell-Funktionstest könnte auch als Ausdruck einer beginnenden Pubertät gewertet werden. Diese Annahme wird auch durch den ausgeprägten Anstieg des Gonadotropins LH im LH-RH-Test wahrscheinlich gemacht (Roth et al. 1972).

Über das Verhalten des DHT nach HCG-Verabreichung liegen in der Literatur meines Wissens noch keine Angaben vor. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zu urteilen, scheint zwischen dem Anstieg der Testosteronkonzentration und der DHT-Konzentration im Plasma der untersuchten Patienten keine feste Beziehung zu bestehen.

Auf die Schwierigkeit, die basalen Gonadotropin-Konzentrationen zu beurteilen, wurde schon in der Einleitung hingewiesen. Eine weitere Problematik in der Beurteilung der Werte ist methodischer Natur und beruht auf den unterschiedlichen radioimmunologischen Methoden, unterschiedlichen Standardpräparationen, die in verschiedenen Laboratorien verwendet werden und den unterschiedlichen Umrechnungsfaktoren, die in der Literatur angegeben werden (Johanson et al., 1969).

Die Betrachtung der relativen Veränderungen des LH und FSH in Form des Anstieges auf das Vielfache des Ausgangswertes beim LH-RH-Test ermöglichen einen Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren (Stubbe et al., 1975).

Der Anstieg des LH nach Injektion des LH-RH ist bei präpubertären Jungen dosisunabhängig, wenn die Dosis im Bereich zwischen 6,25 ug/m^2 und 100 ug/m^2 Körperoberfläche liegt (Roth et al, 1972; Schönberg et al., 1974).

Da bei den von uns untersuchten Patienten eine Dosis von 50 ug/m^2 Körperoberfläche injiziert wurde, sind die bestimmten Werte mit denen anderer Autoren vergleichbar. Die vorliegenden LH-FSH-Bestimmungen wurden mit der Referenzsubstanz LER 907 durchgeführt. Bei der Beurteilung von Absolutwerten konnte deshalb nur ein Vergleich mit solchen Autoren durchgeführt werden, welche dieselbe Standardpräparation benutzen oder Umrechnungsfaktoren in LER 907 bestimmten.

In der nachstehenden Tabelle 21 sind die Ergebnisse verschiedener Autoren zusammengestellt. Angegeben sind die bei der Untersuchung von gesunden präpubertären Jungen gefundenen Mittelwerte und die Standardabweichung s_x oder die Bereiche für die basalen LH- und FSH-Konzentrationen im Plasma und die beim LH-RH-Test bestimmten Maximalwerte. Aufgeführt ist auch der relative Anstieg LH max/LH basal und FSH max/FSH basal.

Tabelle 21

ng/ml LER 907	Abtlg.f.Endokrinologie Uni.Tübingen [1]	Job et al. 1972	Roth et al. 1973	Chaussain et al. 1973	Stubbe et al. 1975	Winter et al. 1972	Johanson et al. 1969	Root et al. 1970
LH basal	22,2±16,6	46 ± 13	22,4±3,2	38 ±5,6	5,5	15,2±4,8	18,3-32,9	27,8-48,
LH max	61,1±19,4	168 ± 43	57,6±2,2	200±32,8	21,4±3,8			
LH max/LH basal	2,75	3,65	2,57	5,26	3,89			
FSH basal	16,7±13,8	121 ± 33	76 ± 15	130±15		80,5±20,1		
FSH max	111,1±19,5	334 ± 45	186±41	230±34				
FSH max/ FSH basal	6,65	2,76	2,45	1,77				

[1] Die in dieser Spalte angegebenen Werte sind der Normalwerttabelle für Hormone im Kindesalter entnommen, die in der Abteilung für endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik (Leiter: Professor Dr.D.Gupta) erstellt wurde.

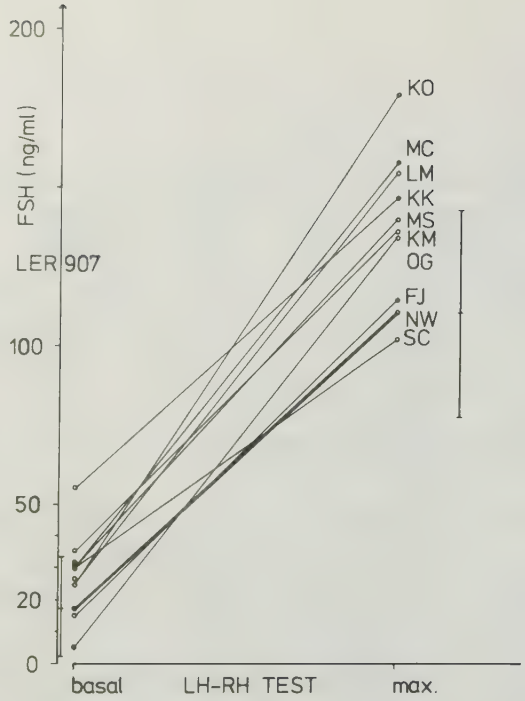


Abb.17: Basal- und Maximalwerte von FSH nach Stimulation mit LH-RH (50 ug/m^2). Die hervorgehobene Linie kennzeichnet den bei 11 Probanden bestimmten Anstieg. Eingetragen ist auch die Standardabweichung s_x des Normalwertes.

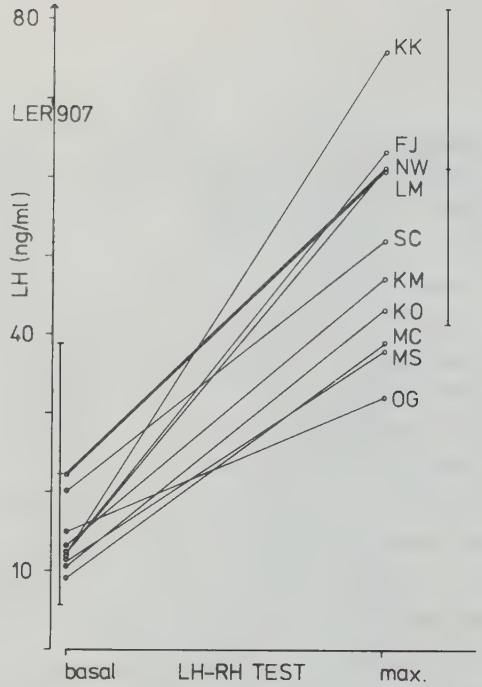


Abb.18: Basal- und Maximalwerte von LH nach Stimulation mit LH-RH (50 ug/m^2). Die hervorgehobene Linie kennzeichnet den bei 3 Probanden bestimmten Anstieg. Eingezeichnet ist auch die Standardabweichung s_x des Normalwertes.

In den Abbildungen 17 und 18 sind die individuellen Ergebnisse beim LH-RH-Test graphisch dargestellt. Zum Vergleich ist der bei 3 (für LH) bzw. bei 11 (für FSH) Probanden bestimmte Anstieg eingetragen.

Der bei den Patienten beobachtete LH-Anstieg auf das etwa Zwei- bis Sechsfache und der FSH-Anstieg auf das Drei- bis Siebenfache des Ausgangswertes lag damit nach Angaben der Tabelle 21 im Bereich der Beobachtungen anderer Autoren. Mit dem Erscheinen der Maximalwerte für LH innerhalb 30 min und für FSH innerhalb 60 min war die Zunahme der Gonadotropinkonzentration im Plasma auch in der zeitlichen Dimension mit den von anderen Autoren beschriebenen Werten in Übereinstimmung (Roth et al., 1972). Bei zwei Patienten, FJ und KK, war der LH-Anstieg zwar etwas verzögert, aber in seinem Ausmaß normal. Lediglich bei 2 Jungen, den Patienten SC und OG, war der Anstieg des LH etwas flach. Allerdings lag die basale Plasma-LH-Konzentration über dem errechneten Mittelwert. Gleichzeitig fiel bei diesen Kindern auch eine geringere Stimulierbarkeit der Leydig-Zellen mit HCG auf.

Bei dem Patienten KK kam es beim LH-RH-Test zu einem starken Anstieg der LH-Plasma-Konzentration. Der HCG-Stimulationstest bei diesem Kind zeigte eine starke Zunahme der Testosteronkonzentration (siehe Tabelle 12). Die Relation dieser Befunde bleibt unklar. Möglicherweise ist das stark retardierte Knochenalter der Kinder SC und OG als Parameter zur Erklärung dieser Beobachtung heranzuziehen. (Roth et al., 1972). Auffällig war auch die anscheinende Abhängigkeit der Testosteronzunahme nach HCG von der Relation der Gonadotropine zueinander. Je kleiner der FSH/LH-Quotient war, desto geringer war auch die Zunahme der Testosteronkonzentration nach HCG. Bei einem FSH/LH-Quotienten kleiner als 1,5 war die Zunahme der Testosteronkonzentration

signifikant geringer ($p < 0,05$) als bei den Kindern mit einem FSH/LH-Quotienten von 1,5-3. Diese Gruppe unterschied sich ihrerseits signifikant ($p < 0,01$) von jenen Kindern, bei denen der FSH/LH-Quotient zwischen 3 und 4,5 lag. Auf die Bedeutung eines FSH/LH-Synergismus für das Ausmaß der Testosteronzunahme nach HCG-Verabreichung wird auch von Winter et al. (1972) hingewiesen. Eine Abhängigkeit der FSH/LH-Relation vom chronologischen Alter bei den untersuchten präpubertären Kindern konnte nicht festgestellt werden. Burr et al. (1970) fanden bei einem größeren Kollektiv präpubertärer Kinder ebenfalls keine solche Abhängigkeit.

Falls der beobachtete Zusammenhang, der im Rahmen dieser Arbeit nur Mutmaßung bleiben kann, weiter zu verifizieren wäre, böte sich eine weitere Erklärung für den relativ geringen Testosteronanstieg bei den Kindern SC und OG.

Die Zusammenschau bei der Untersuchung der inkretorischen Funktio der Testes und der Hypophysenfunktion gewonnener Ergebnisse zeigt, daß bei keinem der Kinder ein hypophysär bedingter Hypogonadismus vorliegt.

Der Anstieg von FSH und LH nach LH-RH-Injektion ist als Ausdruck einer mobilisierbaren Gonadotropinreserve zu verstehen. Dagegen würde eine reduzierte Gonadotropinreserve, gekennzeichnet durch einen mangelhaften Anstieg der Gonadotropinkonzentration beim LH-RH-Test auf eine primär hypophysäre Insuffizienz weisen (Job et al., 1972).

Eine ausreichende Gonadotropinreserve kann auch bei einem primär hypothalamischen Defekt angenommen werden, so daß trotz klinischer Zeichen eines Hypogonadismus eine normale Gonadotropinausschüttung bei Injektion von LH-RH erfolgt (Job et al., 1973).

Die untersuchten Kinder - mit Ausnahme von SC - weisen basale LH-Konzentrationen im Plasma auf, die im unteren Normbereich liegen. Da in diesem Alter noch keine klinischen Zeichen eines Gonadotropinmangels zu erwarten sind, lassen sich solche Werte im unteren Normbereich nicht als sicher pathologisch klassifizieren. Auf diese Problematik wurde eingangs schon hingewiesen.

Bei ausreichendem Anstieg der Gonadotropinkonzentration beim LH-RH-Test und niedrigen basalen LH-Werten wäre ein Defekt auf hypothalamischer Ebene zu vermuten.

Allerdings weisen Chaussain et al. (1974) darauf hin, daß der LH-RH-Test nicht immer ausreicht, um die Ebene eines Defektes auf der hypothalamo-hypophysären gonadalen Achse sicher zu lokalisieren. Während beim TRH-Test (thyreotropin releasing hormone) in vielen Fällen von einem primär hypothalamischen Defekt immer mit einem Anstieg von TSH (Thyreoidea-stimulierendes Hormon) zu rechnen ist, bleibt der Anstieg der Gonadotropine nach LH-RH-Injektion manchmal aus, so daß nicht sicher zwischen hypophysärer Insuffizienz oder hypothalamischem Defekt differenziert werden kann.

Diese Schwierigkeit trat bei den von uns untersuchten Patienten nicht auf, da sich bei allen Kindern beim LH-RH-Test eine ausreichende Zunahme der Gonadotropin-Konzentration zeigte.

Die gefundenen Ergebnisse geben weiteren Anhalt für die Richtigkeit der eingangs erwähnten Hypothese. Demnach wäre eine perinatal, im Zusammenhang mit der spastischen Tetraparese, erworbene Schädigung hypothalamischer Zentren ursächlich verantwortlich für den Hodenhochstand bei den untersuchten Kindern. Die Konsequenz dieser Schädigung wäre eine ungenügende Stimulation der hypophysären Gonadotropinabgabe auf Grund eines

LH-RH-Mangels, der durch verschiedene pathogenetische Mechanismen bedingt sein könnte:

1. Schädigung der zur Biosynthese von LH-RH notwendigen Enzymsysteme.

2. Schädigung hypothalamischer Kerne und daraus resultierende Unfähigkeit, Informationen vom Kortex, dem limbischen System, der Formatio reticularis oder über den Spiegel der Sexualsteroide zu rezeptieren, zu integrieren und sie in neurohumorale Impulse umzuwandeln.

3. Schädigung der sog. neurovaskulären Kette, über welche die hypophyseotropen Hormone (releasing hormones) in die Adenohypophyse gelangen (Schreiner, 1973).

Der dadurch bedingte partielle Gonadotropinmangel könnte eine Vollendung des Descensus testis etwa bei Frühgeborenen verhindern oder bei schon descendierten Hoden möglicherweise zur Entstehung eines Kryptorchismus führen.

Als Hinweis auf die Richtigkeit dieser Überlegungen deutet auch die Beobachtung, daß der einzige Junge, bei dem die Hoden bilateral deszendiert waren, im Plasma relativ hohe Basalwerte von FSH und LH aufwies.

Als weiterer pathogenetischer Mechanismus wäre auch eine im Rahmen der spastischen Tetraparese bestehende Spastik des Musculus cremaster zu erwägen, der als eine Abspaltung vom Musculus obliquus int. abdominis den Funiculus spermaticus umhüllt und den Hoden hebt. Meines Wissens liegen darüber noch keine Untersuchungen vor.

6. Zusammenfassung

Es wurde beobachtet, daß Kinder mit Tetraspastik häufig einen Hodenhochstand haben.

An 9 Kindern mit der neurologischen Diagnose einer spastischen Tetraparese sollte diese Beobachtung verfiziert werden. Durch die Erhebung einer ausführlichen Anamnese in Anlehnung an die Liste der optimalen obstetrischen Bedingungen nach Prechtl konnte die Tetraspastik mit großer Wahrscheinlichkeit auf ein hypoxämisches Ereignis während der Geburt zurückgeführt werden.

Bei den untersuchten präpubertären Jungen waren nur in einem Fall die Hoden deszendiert und normal groß. Bei 3 Patienten waren die Hoden unilateral, bei 5 Patienten bilateral nicht deszendiert.

Deswegen wurden die funktionale Antwort der Gonadotropine auf LH-RH und die Ansprechbarkeit der Hoden auf einen HCG-Stimulus untersucht, um Aufschlüsse über die Hypophysenfunktion und die inkretorische Funktion des Testes zu gewinnen. Die Androgene Testosteron, DHT und die Gonadotropine LH und FSH wurden im Plasma radioimmunologisch bestimmt.

Die basalen Testosteronwerte zeigten Schwankungen zwischen 1,4 und 20,7 ng/100 ml Plasma. Nach HCG-Verabreichung (3 x 1500 IU in 2-tägigem Abstand i.m.) stieg bei allen Patienten der Testosteron-Spiegel an auf Werte zwischen 117,6 und 484 ng/100 ml. Die Werte für DHT lagen vor HCG-Verabreichung zwischen 0 und 21,7 ng/100 ml und stiegen nach HCG auf Werte zwischen 8,3 und 86,7 ng/100 ml an.

Der Basalwert für FSH lag zwischen 5 und 55 ng/ml bei den verschiedenen Patienten und stieg nach LH-RH-Verabreichung auf einen Maximalwert von 180 ng/ml an. LH lag vor der Stimulation mit LH-RH zwischen 9 und 40,8 ng/ml, danach zwischen 17,5 und 76,3 ng/ml.

Die Auswertung dieser Ergebnisse des LH-RH-Testes und des Leydig-Zell-Funktionstestes zeigten keinen sicheren Anhalt für das Vorliegen einer primär hypophysären Insuffizienz oder für einen primären Hypogonadismus.

Es ließ sich deshalb eine primär hypothalamische Schädigung wahrscheinlich machen, die vermutlich perinatal im Zusammenhang mit der spastischen Tetraparese durch ein hypoxämisches Ereignis erworben wurde und in der Pathogenese des Hodenhochstandes bei solchen Kindern von Bedeutung ist.

7. Literatur

ALBANO, J., and EKINS, R.P.:
The fundamental principles governing the attainment of high sensitivity and precision in radioimmunoassay techniques.
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 138,2 (1969)

BERSON, S.A.:
Introduction of Symposium on Radioimmunoassay
In: Protein and polypeptide hormones, Part 1, Margoulis, M., Amsterdam: 3-4 (1968)

BIERICH, J.R.:
Moderne Gesichtspunkte zum Problem des Hodenhochstandes
Internist (Berlin) 8, 42-46 (1967)

BIERICH, J.R., BLUNCK, W., SCHÖNBERG, D.:
Frühreife bei cerebral-organischen Erkrankungen.
Mschr.f.Kinderheilk. 115, 509-516 (1967)

BOON, D.A., KEENAN, R.E., SLAUNWHITE, W.R., ACETO, Th.jr.:
Conjugated and unconjugated plasma androgens in normal children.
Pedit.Res.6, 111-118 (1972)

BURR, J.M., SIZOMENKO, P.C., KAPLAN, S.L., and GRUMBACH, M.M.:
Hormonal changes in puberty.
Pediat.Res.4, 25-35 (1970)

CAMPBELL, H.E.:
The incidence of malignant growth of undescended testicle: a reply and re-evaluation.
J.Urol.(Baltimore) 81, 663-668 (1959)

CARR, B.R., MIKHAIL, G., FLICKINGER, G.L.:
Column chromatography of steroids on sephadex LH-20
J.Clin.Endocr.33, 358-360 (1971)

CHAUSSAIN, J.L., GARNIER, P.E., BINET, E., VASSAL, J., SCHOLLER, R., JOB, J.C.:
Effect of synthetic LH-RH on the release of gonadotropins in hypophyso-gonadal disorders of children and adolescents. III.Hypopituitarism.
J.clin.Endocr.38, 57-63 (1974)

COOPER, J.S., and HOEN, T.J.:
Gynecomastia in paraplegic males.
J.clin.Endocr.9, 457-461 (1949)

EKINS, R., NEWMAN, B.:
Theoretical aspects of saturation analysis.
Acta endocr.Suppl.147, 11-30 (1970)

ELGER, W., RICHTER, J.:
Failure to detect androgen dependence of the descensus testiculorum in rabbit and mice fetuses.
In: Maldescensus testis, ed. J.R.Bierich, K.Rager, M.Ranke, München, Urban & Schwarzenberg (1977)

FRASIER, S.D., GUFFORD, F., HORTON, R.:
Plasma androgens in childhood and adolescence.
J.clin.endocr.29, 1404-1408 (1969)

FURUYAMA, S., MAYES, D., NUGENT, C.A.:
A radioimmunoassay for plasma testosterone
Steroids 16, 415-428 (1970)

GUPTA, D., ATTANASIO, A., and RAAF, S.:
Plasma estrogen and androgen concentrations in children during adolescence.
J.clin.Endocr.40, 636-643 (1975)

GUPTA, D., McCAFFERTY, E., RAGER,K.:
Plasma 5α-Dihydrotestosterone (17β-hydroxy-5α-androstan-3-one) in adolescent males of different stages of sexual maturation.
Steroids 19, 411-431 (1972)

HAMILTON, W.J., BOYD, J.D., MOSSMAN, H.W.:
The urogenital system.
In: Human Embryology, 3.edition, Cambridge, W.Heffer & Sons, p. 267-314 (1962)

HEDINGER, Chr.:
Männliche Geschlechtsorgane.
In: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie
29.Aufl, Berlin, Springer Verlag, 649-658 (1974)

HERBERT, V.:
Coated charcoal separation of free labelled hormone from hormone bound to antibody.
In: Protein and polypeptide hormones, Part 1, Margoulies, M., Amsterdam: 55-60 (1968)

HORTON, R., and TAIT, J.F.:
In vivo conversion of dehydroisoandrosterone to plasma androstenedione and testosterone in man.
J.Clin.Endocr.27, 79-88 (1967)

JOB, J.C., GARNIER, P.E., CHAUSSAIN, J.L., MILHAUD, G.:
Elevations of serum gonadotropins (LH, FSH) after LH-RH injection in normal children and in patients with disorder of puberty.
J.Clin.Endocr.35, 473-476 (1972)

JOB, J.C., GARNIER, P.E., CHAUSSAIN, J.L., CANLORBE, P., MILHAUD, G.:
Effects of synthetic LH-RH on the release of gonadotropins in normal children and in some pathological conditions.
Acta paediat.scand.62, 92 (1973)

JOB, J.C., GARNIER, P.E., CHAUSSAIN, J.L., TOUBLANC, J.E., CANLORBE, P.:
Pituitary gonadotropin response to LH-RH and testicular response to HCG in children with undescended testes.
Acta paedit.scand.63, 328 (1974)

JOB, J.C., GARNIER, P.E., CHAUSSAIN, J.L., SCHOLLER, R., TOUBLANC, J.E., CANLORBE, P.:
Effect of synthetic LH-RH on the release of gonadotropins in hypophyso-gonadal disorders of children and adolescents. V.Agonadism.
J.clin.Endocr.38, 1109-1114 (1974)

JOHANSON, A., GUYDA, H., LIGHT, C., MIGEON, C., BLIZZARD, R.:
Serum luteinizing hormone by RIA in normal children.
Pediatrics 74, 3, 416-424 (1969)

JOSSO, N.:
Development and descent of the fetal testis.
In: Maldescensus testis, ed.J.R.Bierich, K.Rager, M.Ranke, München, Urban & Schwarzenberg (1977)

KAISER, H.:
Zum Problem der Nachweisgrenze.
Z.analyt.Chem.209, 1-19 (1965)

KEYE, J.D.jr.:
Hyperplasia of Leydig cells in chronic paraplegia.
Neurology 6, 68-72 (1956)

KNORR, D.:
Diagnose und Therapie der Deszensusstörungen des Hodens.
Päd.Praxis 9, 299-304 (1970)

LANGMAN, J.:
Medizinische Embryologie, 2.Aufl. Stuttgart, Thieme,
156-176 (1970)

LLAURADO, J.G., DOMINGUEZ, O.V.:
Effect of cryptorchidism on testicular enzymes involved
in androgen biosynthesis.
Endocrinology 72, 292 (1963)

MIDGLEY, A.R.:
Radioimmunoassay for human follicle stimulating hormone.
J.Clin.Endocr.Metab.27, 295 (1967)

MURPHY, B.E.P.:
Methodological problems in competitive protein-binding
techniques, the use of Sephadex column chromatography
to separate steroids.
Acta endocrin.Suppl.147, 37-56 (1970)

NIESCHLAG, E., LORIAUX, D.L.:
Radioimmunoassay for plasma testosterone.
Z.Klin.Chem.u.Klin.Biochem. 10 Jg., 164-168 (1972)

PIRKE, K.M.:
A comparison of three methods of measuring testosterone
in plasma: competitive protein binding, radioimmunoassay
without chromatography and radioimmunoassay including
thin layer chromatography.
Acta endocr.74,168-176 (1973)

PRADER, A.:
Kryptorchismus (Retentio testis)
In: Klinik der inneren Sekretion, Labhart, A., 2.Aufl., Berlin, Springer, 488-493 (1971)

PRECHTL, H.F.R.:
Neurological findings in newborn infants after pre- and paranatal complications.
In: Aspects of prematurity and dysmaturity.
Ed.: Jonxis, J.H.P., Visser, H.K.A., Troelstra, J.A., Leiden, 303-321 (1968)

RICK, W.:
Klinische Chemie und Mikroskopie
2.Aufl., Berlin, Springer, 373-388 (1973)

RIVAROLA, M.A., BERGADA, D., CULLEN, M.:
HCG stimulation test in prepubertal boys with cryptorchidism, in bilateral anorchia and in male pseudohermaphroditism.
J.clin.Endocr.31, 526-530 (1970)

ROOT, A.W., MOSHANG, T.Jr., BONGIOVANNI, A.M., and EBERLEIN, W.R.:
Concentrations of plasma LH in infants, children, and adolescents with normal and abnormal gonadal function.
Pediat.Res.4, 175-186 (1970)

ROTH, J.C., GRUMBACH, M.M., KAPLAN, S.L.:
Effect of synthetic LH-RH on serum testosterone and gonadotropins in prepuberal, puberal and adult males.
J.clin.Endocr.37, 680-686 (1973)

ROTH, J.C., KELCH, R.P., KAPLAN, S.L., GRUMBACH, M.M.:
TSH and LH response to LH-RH factor in prepubertal and pubertal children, adult males and patients with hypogonadotropic and hypergonadotropic hypogonadism.
J.clin.Endocr.35, 926-930 (1972)

SACHS, L.:
Statistische Methoden, ein Soforthelfer, 3.Aufl, Berlin, Springer (1976)

SAEZ, J.M., and BERTRAND, J.:
Studies on testicular function in children: Plasma concentrations of testosterone, dehydroepiandrosterone and its sulfate before and after stimulation with human chorionic gonadotropin.
Steroids 12, 749-761 (1968)

SCHÖNBERG, D., JOEL, E.W., JETTER, E., BIERICH, J.:
Graded dose response of plasma HLH and HFSH to synthetic gonadotropin releasing factor (LH-RH) in boys and girls before and after puberty onset.
Acta endocr.(Kbh). Suppl.184, 25 (1974)

SCHREINER, W.E.:
Ovar.
In: Klinische Pathophysiologie, Siegenthaler W., 2.Aufl. Stuttgart, Thieme, 370-399 (1973)

STUBBE, P., v.zur MÜHLEN, A., HEIDEMANN, P.:
Die diagnostische Anwendung von LH-RH im Präpubertätsalter.
Kinderheilk.123, 100-105 (1975)

SWOBODA, W.:
Diagnose und Therapie der Descensusstörungen des Hodens.
Päd.Praxis 9, 305-306 (1970)

TANNER, J.M.:
Wachstum und Reifung des Menschen.
Stuttgart, Thieme (1962)

VERMEULEN, A., VERDOUCK, L.:
Testosterone assays by competitive protein binding.
Acta endocrin.Suppl.147, 239-253 (1970)

WENSING, C.J.G., COLENBRANDER, B.:
The process of normal and abnormal testicular descent.
In: Maldescensus testis, ed. J.R.Bierich, K.Rager,
M.Ranke, München, Urban & Schwarzenberg (1977)

WIEDEMANN, H.R.:
Krankheiten des Nervensystems und der Muskulatur.
In: Lehrbuch der Kinderheilkunde, Feer, E., 23.Aufl.,
Stuttgart, Gustav Fischer, 538-627 (1975)

WINTER, J.S.D, FAIMAN, C.:
Pituitary-gonadal relations in male children and adolescents.
Pediat.Res.6, 126-135 (1972)

WINTER, J.S.D., TARASKA, S., FAIMAN, C.:
The hormonal response to HCG stimulation in male children
and adolescents.
J.clin.Endocr.34, 348-353 (1972)

YALOW, R.S., BERSON, S.A.:
Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.
J.clin.Invest.39, 1157-1175 (1960).

Lebenslauf

Am 11.4.1952 wurde ich, Alfred Kuttruf, als Sohn des Tapezier- und Polsterers Alfred Kuttruf und seiner Ehefrau Anna Kuttruf, geborene Renz, in Stuttgart-Bad Cannstatt geboren.

Seit 1959 besuchte ich die Grundschule, seit 1963 das Gottlieb-Daimler-Gymnasium in Bad Cannstatt. Am 9. Juni 1971 legte ich an dieser Schule die ordentliche Reifeprüfung ab.

Im Oktober 1971 nahm ich das Studium der Medizin an der Universität Hohenheim auf. Nach der dort abgelegten naturwissenschaftlichen Vorprüfung immatrikulierte ich mich 1972 an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen. Im März 1974 legt ich die ärztliche Vorprüfung ab.

Am 20.10.1978 schloß ich das Medizinstudium an dieser Universität mit dem Staatsexamen ab.